Histoautoradiographische Untersuchungen mit ^{3}H-Thymidin zum kompensatorischen Nierenwachstum bei Ratten nach unilateraler Nephrektomie mit und ohne Thermokoagulation des Ductus thoracicus vor dessen Einmündung in den linken Venenwinkel

Inaugural - Dissertation
zur
Erlangung des Doktorgrades
der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität
zu Bonn

vorgelegt von
Mechtild Keller
aus Schermbeck

Bonn 1980

Histoautoradiographische Untersuchungen mit ^{3}H-Thymidin zum kompensatorischen Nierenwachstum bei Ratten nach unilateraler Nephrektomie mit und ohne Thermokoagulation des Ductus thoracicus vor dessen Einmündung in den linken Venenwinkel

Inaugural - Dissertation
zur
Erlangung des Doktorgrades
der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität
zu Bonn

vorgelegt von
Mechtild Keller
aus Schermbeck

Bonn 1980

Angefertigt mit Genehmigung der
Medizinischen Fakultät der Universität Bonn

1. Gutachter: Prof. Dr. med. H. Cremer
2. Gutachter: Priv.Doz. Dr. med. D. Koischwitz

Aus dem Pathologischen Institut der Universität Bonn
Direktor: Prof. Dr. P. Gedigk

Druck: R. Schwarzbold, Witterschlick b. Bonn

UNIV. LEIDEN BIBL.

Inhaltsverzeichnis

1.	Einleitung	7
1.1	Struktur und Morphologie des Lymphgefäßsystems	8
1.2	Das Lymphgefäßsystem der Ratte	11
1.3	Entstehung und Zusammensetzung der Lymphe	13
1.4	Normale Anatomie des Nierenlymphgefäßsystems	17
1.5	Lymphbildung in der Niere	20
1.6	Experimentelle Lymphstase - Stand der Forschung	21
1.7	Experimentelle Lymphstase in der Niere	23
1.8	Autoradiographie	26
1.8.1	Entwicklung, Technik und Aufgaben der Autoradiographie	26
1.8.2	Aussagekraft von Autoradiogrammen	31
1.8.2.1	Der Zellzyklus und seine Teilphasen	32
1.8.2.1.1	Pulsmarkierung mit ^{3}H-TdR	34
1.8.2.1.2	Doppelmarkierung mit ^{3}H-TdR und ^{14}C-TdR	40
1.8.2.1.3	Bestimmung der Wachstumsfraktion durch wiederholte ^{3}H-TdR-Pulsmarkierungen	43
1.8.2.1.4	Bestimmung der Generationszeit (T_c)	44
1.8.2.2	Spät- und Vormarkierung	45
1.9	Kompensatorisches und regeneratorisches Nierenwachstum - Ergebnisse anderer Untersuchungen	48
1.9.1	Proliferationsumfang und -topik beim kompensatorischen und regeneratorischen Nierenwachstum	49
1.9.2	Die Dauer von Zellzyklusphasen in der Niere	51
1.10	Ziel der eigenen Arbeit	54
2.	Material und Methoden	55
2.1	Tiermaterial	55
2.1.1	^{3}H-TdR-Einbau in die Rattenniere nach unilateraler Nephrektomie	55
2.1.2	^{3}H-TdR-Einbau in die Rattenniere nach unilateraler Nephrektomie und Ductus thoracicus-Blokkade	56
2.1.3	Gesunde Kontrolltiere	56
2.1.4	Bestimmung der Wachstumsfraktion bei Ratten nach Nephrektomie und Nephrektomie mit gleichzeitiger Ductus thoracicus-Blockade	56

2.1.5	Doppelmarkierung mit ^{3}H-TdR und ^{14}C-TdR zur Bestimmung der S-Phasendauer bei Ratten nach Nephrektomie mit und ohne gleichzeitige Blokkade des Ductus thoracicus	57
2.2	Chirurgische Methoden	57
2.2.1	Nephrektomie	57
2.2.2	Ductus thoracicus-Blockade	57
2.3	Histologische Methoden	58
2.4	Auswertung der Autoradiogramme	59
2.4.1	Bestimmung des Markierungsindex (L.I.) bei Ratten nach kontralateraler Nephrektomie ohne und mit gleichzeitiger Blockade des Ductus thoracicus	59
2.4.2	Bestimmung der Wachstumsfraktion (G.F.)	61
2.4.3	Bestimmung der S-Phasendauer (Doppelmarkierungsversuch mit ^{3}H-TdR und ^{14}C-TdR)	62
2.4.4	Bestimmung der Gesamtzellzyklusdauer (T_c)	63
2.4.5	Bestimmung der Zeitdauer für $(G_2 + M)_{min}$	63
2.4.6	Bestimmung der Zeitdauer für G_1	63
3.	Kritik der Methoden	64
3.1	Versuchstiere	64
3.2	Chirurgische Methoden	64
3.3	Histologische Methoden	65
3.4	Autoradiographische Methoden	66
3.5	Zähl- und Meßmethoden	68
4.	Beschreibung der Ergebnisse	70
4.1	Markierungsindices der Tubulusepithelien in der Rattenniere nach kontralateraler Nephrektomie	70
4.1.1	Befunde in der Nierenrinde	70
4.1.2	Befunde im Außenstreifen	71
4.1.3	Befunde im Innenstreifen	72
4.2	Markierungsindices der Tubulusepithelien in der Rattenniere nach kontralateraler Nephrektomie und gleichzeitiger Ductus thoracicus-Blockade	73
4.2.1	Befunde in der Nierenrinde	73
4.2.2	Befunde im Außenstreifen	74

4.2.3	Befunde im Innenstreifen	75
4.3	Vergleich der Befunde (Markierungsindices der Tubulusepithelien) bei nephrektomierten Ratten mit und ohne gleichzeitige Ductus thoracicus-Blockade	76
4.4	Markierungsindices der Tubulusephithelien in der Innenzone der Niere	79
4.4.1	Befunde bei nephrektomierten Tieren	79
4.4.2	Befunde bei nephrektomierten Tieren mit gleichzeitiger Blockade des Ductus thoracicus	80
4.5	Vergleich der Markierungsindices der Tubulusepithelien in der Innenzone der Niere bei nephrektomierten Ratten und Ratten mit Nephrektomie und Ductus thoracicus-Blockade	81
4.6	Markierungsindices der Interstitialzellen in der Rattenniere nach kontralateraler Nephrektomie	81
4.6.1	Befunde in der Nierenrinde	81
4.6.2	Befunde im Außenstreifen	82
4.6.3	Befunde im Innenstreifen	83
4.7	Markierungsindices der Interstitialzellen in der Rattenniere nach kontralateraler Nephrektomie und gleichzeitiger Ductus thoracicus-Blockade	84
4.7.1	Befunde in der Nierenrinde	84
4.7.2	Befunde im Außenstreifen	85
4.7.3	Befunde im Innenstreifen	86
4.8	Vergleich der Befunde (Markierungsindices der Interstitialzellen) bei nephrektomierten Ratten mit und ohne gleichzeitige Blockade des Ductus thoracicus	87
4.9	Markierungsindices der Interstitialzellen in der Innenzone der Niere	88
4.9.1	Befunde bei nephrektomierten Ratten	88
4.9.2	Befunde bei Ratten nach kontralateraler Nephrektomie und gleichzeitiger Blockade des Ductus thoracicus	89
4.10	Vergleich der Markierungsindices der Interstitialzellen in der Innenzone der Niere bei nephrektomierten Ratten und Ratten mit Nephrektomie und gleichzeitiger Ductus thoracicus-Blockade	89
4.11	Wachstumsfraktion bei Ratten nach unilateraler Nephrektomie mit und ohne gleichzeitige Blokkade des Ductus thoracicus (4. postoperativer Tag)	90

4.11.1	Befunde bei Tubulusepithelien	90
4.11.2	Befunde bei Interstitialzellen	91
4.12	Dauer der S-Phase bei Ratten nach unilateraler Nephrektomie mit und ohne gleichzeitige Ductus thoracicus-Blockade (4. postoperativer Tag)	92
4.12.1	Befunde bei Tubulusepithelien	92
4.12.2	Befunde bei Interstitialzellen	93
4.13	Dauer des Zellzyklus (T_c) bei Ratten nach unilateraler Nephrektomie mit und ohne gleichzeitige Blockade des Ductus thoracicus (4. postoperativer Tag)	93
4.13.1	Befunde bei Tubulusepithelien	93
4.13.2	Befunde bei Interstitialzellen	94
4.14	Dauer der $(G_2 + M)_{min}$-Phase bei Tubulusepithelien und Interstitialzellen von Ratten nach unilateraler Nephrektomie mit und ohne gleichzeitige Blockade des Ductus thoracicus am 4. Tag nach Nephrektomie	94
4.15	Dauer der G_1-Phase bei Ratten nach unilateraler Nephrektomie mit und ohne gleichzeitige Blockade des Ductus thoracicus (4. postoperativer Tag)	96
4.15.1	Befunde bei Tubulusepithelien	96
4.15.2	Befunde bei Interstitialzellen	96
4.16	Tabellarische Zusammenfassung der Ergebnisse	97/98
5.	Besprechung der Befunde	99
6.	Zusammenfassung	123
Literaturverzeichnis		128
Lebenslauf		

1. Einleitung

Das lymphatische System umfaßt die Gesamtheit aller Lymphkapillaren, die Lymphsammelgefäße und die großen Lymphstämme, einschließlich der zwischengeschalteten Lymphknoten. Die Flüssigkeit in diesem Gefäßsystem bezeichnet man als Lymphe (WENZEL, 1972; RUSZNYAK et al., 1969).

Die Hauptaufgabe des Lymphgefäßsystems besteht in der kontinuierlichen Drainage des Interstitiums und im ständigen Rücktransport von Plasmaproteinen, die, nachdem sie die Blutbahn verlassen haben, über die Lymphgefäße erneut dem Blutkreislauf zugeführt werden.

Das Lymphgefäßsystem erfüllt somit eine Hilfsfunktion für die venöse Seite des Blutkreislaufs und sorgt zusammen mit diesem für die Konstanterhaltung des "milieu intérieure" der höheren Organismen (RUSZNYAK et al., 1969; WENZEL, 1972; FÖLDI, 1972).

1.1 Struktur und Morphologie des Lymphgefäßsystems

Lymphkapillaren kommen in den meisten Organen vor. Sie fehlen innerhalb der Leberläppchen, der Langerhansschen Inseln, in den Glomeruli, in den Eihäuten, im Nabelstrang, in der Dura mater, im Knorpel, in der Hornhaut und in der Intima der Gefäße (RUSZNYAK et al., 1969; WENZEL, 1972; GRAU, 1972).

Dem unterschiedlichen Wandbau folgend, unterteilt man die Lymphgefäße in Lymphkapillaren, Lymphsammelgefäße und Hauptlymphstämme.

Die Lymphkapillaren beginnen als blindverschlossene Endothelschläuche im Interstitium. Die einschichtige Endothelzellage grenzt meist ohne Basalmembran an das umgebende Bindegewebe. Die Interzellularverbindungen zwischen zwei benachbarten Endothelzellen sind unterschiedlich ausgebildet und können in einfachen End-zu-End-Aneinanderlagerungen, in Überlappungen oder Verzahnungen aneinander grenzender Zellmembranen bestehen (CASLEY - SMITH, 1968, 1969; WENZEL, 1972; LEAK, 1972; HUTH und BERNHARDT, 1977).

An der Außenseite gehen von den Endothelzellen zahlreiche feine, undehnbare Filamente aus, sogenannte "anchoring filaments". Sie verankern die Lymphkapillaren fest im umgebenden Bindegewebe und verhindern deren Kollaps im Falle eines interstitiellen Ödems (LEAK, 1972; FÖLDI, 1972).

Die Lymphsammelgefäße nehmen diejenige Lymphe auf, welche aus den Lymphkapillaren einströmt. Sie leiten sie weiter zu den Lymphknoten. Ihr Wandaufbau ähnelt demjenigen einer Vene. Die Lymphsammelgefäße und die größeren Lymphstämme sind reichlich mit bicuspidalen Klappen bestückt (WENZEL, 1972; LEAK, 1972).

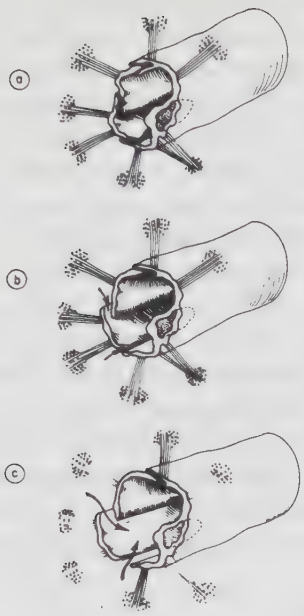

Abb. 1: Schema der sogenannten "anchoring filaments" in Ruhe- (a) und Arbeitsphase (b + c) (aus: COURTICE, 1972).

Die Lymphstämme besitzen unabhängig von ihrer Größe die gleiche Fundamentalstruktur: eine Endothelzellage wird von einer bindegewebigen Scheide umgeben, die glatte Muskelfasern, elastische Lamellen und Vasa vasorum einschließt (RUSZNYAK et al., 1969; WENZEL, 1972; LEAK, 1972).

Die Lymphstämme münden in den Ductus thoracicus. In seiner Wand lassen sich drei Schichten unterscheiden: Tunica intima, Tunica media und Tunica adventitia. Die Tunica intima besteht aus einer einzigen Lage von Endothelzellen sowie aus einer sehr dünnen Lamina elastica interna als Grenze zwischen Tunica intima und

Tunica media. Die Tunica media wird von einer Schicht glatter Muskelzellen in zirkulärer Anordnung gebildet. An der Tunica adventitia lassen sich ein innerer und ein äußerer Anteil unterscheiden. Der innere Anteil besteht aus straffem kollagenen Bindegewebe, das zusätzlich mit elastischen Fasern und längs oder schräg verlaufenden glatten Muskelzellen durchsetzt ist. Diese Schicht geht ohne scharfe Grenze in den äußeren Anteil aus einem lockeren Bindegewebe über, das sich wiederum allmählich in das umgebende Fettgewebe verliert. Außerdem finden sich in der Tunica adventitia Vasa vasorum (AZARGOSCHASB, 1963; LEAK, 1972).

Ontogenetisch und phylogenetisch leitet sich das Lymphgefäßsystem vom Venensystem ab (SABIN, 1916; KAMPMEIER, 1969). Dennoch ist die Existenz lymphatico-venöser Anastomosen (LVA) lange Zeit angezweifelt worden (Übersicht bei RUSZNYAK et al.,1969). Heute kann aufgrund von licht- und elektronenmikroskopischen Befunden am Vorkommen von LVA kein Zweifel mehr bestehen (ENGESET, 1959; BÊLAN et al., 1963; THREEFOOT, 1968; ISHIDA et al., 1970; MALÊK, 1972).

JOB beschrieb bereits 1918 lymphatico-venöse Anastomosen bei Ratten, und zwar fand er solche Kurzschlüsse zwischen Lymphgefäßen und der Vena cava inferior im Iliolumbar-Bereich und in der Nierenregion. Experimentell gelingt der Nachweis lymphaticovenöser Anastomosen besonders leicht nach Ductus thoracicus - Blockade. Bei Hunden und Schafen konnten solche Anastomosen im Bereich der Vena cava inferior, der Nierenvenen, der Portalvenen, der Intercostalvenen und der Vena azygos nachgewiesen werden (BÊLAN et al., 1963; THREEFOOT, 1968; PRESSMAN et al., 1970; ISHIDA et al., 1970; WALLACE, 1970; MALÊK, 1972). Diese Anastomosen wurden 7 - 21 Tage nach Ligatur des Ductus thoracicus sichtbar.

Eine weitere Struktur, das sogenannte paralymphatische System, wurde erstmals von OTTAVIANI (1959) beschrieben. Dabei handelt es sich um perivenöse und perineurale Spalträume, vergleichbar den Virchow-Robinschen Räumen im Zentralnervensystem. WALLACE

(1970), TEMMER et al. (1970) sowie insbesondere ISHIDA et al. (1970) haben sich klinisch und experimentell mit dem paralymphatischen System befaßt. Dieses System wird dann vikariierend durchströmt, wenn das Lymphgefäßsystem überfordert ist. Seine Transportkapazität wird derjenigen des Lymphgefäßsystems gleichgesetzt. Im Verein mit den lymphatico-venösen Anastomosen sowie der großen Regenerationsfähigkeit der Lymphgefäße verhindert es die experimentelle Erzeugung eines chronischen Lymphödems (FÖLDI, 1971, 1972; MALÉK, 1970, 1972; SAILER und STAUCH, 1972).

Das paralymphatische System ist zu trennen von dem prälymphatischen System. Darunter verstehen RUSZNYAK et al. (1969) interstitielle Spalten ohne endotheliale Auskleidung (z.B. Disse'sche Räume, Henlesche Septen usw.) in den parenchymatösen Organen, welche den eigentlichen Lymphkapillaren vorgeschaltet sind.

1.2 Das Lymphgefäßsystem der Ratte

Untersuchungen über den Verlauf des Lymphgefäßsystems bei der Ratte liegen u.a. vor von TILNEY (1971), AKISADA und GEORGI (1970) und AZARGOSCHASB (1963). Danach vereinigen sich die paarigen Trunci lumbales, die die Lymphe der unteren Extremitäten ableiten, in Höhe des Abgangs der Nierenvenen zur Cysterna chyli. In die Cysterna chyli münden auch die Trunci intestinales sowie die Nierenlymphgefäße. Die Cysterna chyli verengt sich nach wenigen Millimetern und geht in den Ductus thoracicus über. Dieser verläuft im Bauch- und Brustraum in unmittelbarer Nachbarschaft der Aorta. Schließlich mündet er im oberen Thoraxraum in den linken Venenwinkel, der Vereinigungsstelle der Vena jugularis mit der Vena subclavia sinistra. Der Ductus thoracicus ist hier oft stark aufgegliedert und besitzt versteckte Einmündungen in die Vene.

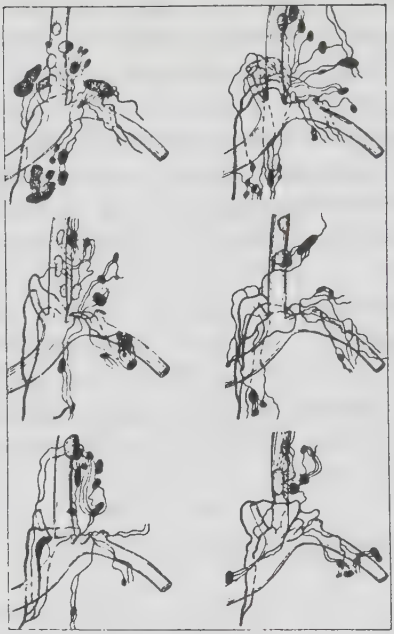

Abb. 2: Verschiedene Varianten der Einmündung des Ductus thoracicus in den linken Venenwinkel (aus: RUSZNYAK et al., 1969).

Zusätzlich existiert auf jeder Seite je ein Ductus thoracicus lateralis, welcher von den Ln. inguinales ausgehend im subcutanen Fettgewebe der seitlichen vorderen Bauch- und Brustwand verläuft, um lateral vom Körperstamm in die Ln. axillares einzumünden. Über den Truncus subclavius gelangt diese Lymphe ebenfalls in den rechten bzw. linken Venenwinkel.

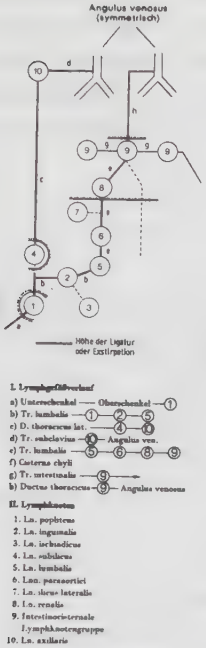

Abb. 3: Schema des Lymphgefäßsystems der Ratte (modifiziert nach AKISADA und GEORGI, 1970).

1.3 Entstehung und Zusammensetzung der Lymphe

Die wesentlichen Vorgänge der Lymphbildung finden im Bereich der Endstrombahn statt, d.h. im Bereich von Blutkapillaren, interstitiellem Gewebe und Lymphkapillaren. Dabei strömen Flüssigkeit und darin gelöste Teilchen aus dem arteriellen Schenkel der Blutkapillaren ins Interstitium und von dort aus zu einem kleinen Teil in die postkapillären Venolen zurück. Zum größeren Teil wird diese interstitielle Flüssigkeit jedoch von den Lymphkapillaren aufgenommen und anschließend über die Lymphsammelgefäße und die Hauptlymphstämme in das Blutgefäßsystem zurücktransportiert (GAUER, 1972; FÖLDI, 1972; THULESIUS, 1973; TAYLOR et al., 1973).

Menge und Richtung dieses Flüssigkeitsstroms werden bestimmt durch die hydrostatischen und kolloidosmotischen Drucke in den Blutkapillaren, im interstitiellen Gewebe und in den Lymphkapillaren. Außerdem spielt die Permeabilität der Blut- und Lymphkapillarwand für Flüssigkeit und gelöste Teilchen, vor allen Dingen für Eiweiß, eine wichtige Rolle (GAUER, 1972; TAYLOR et al., 1973).

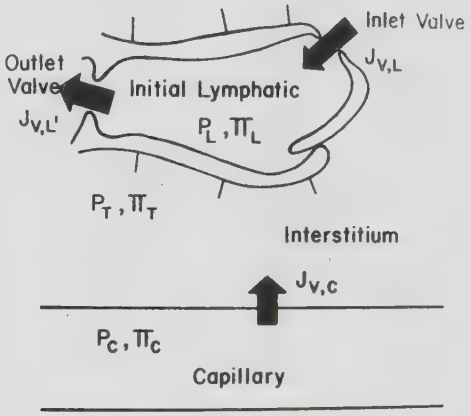

Abb. 4: Schematische Darstellung der Lymphbildung im Gewebe (aus: TAYLOR et al., 1973):
In der graphischen Darstellung bedeuten:

P_i = Hydrostatischer Druck in Kapillaren, Interstitium bzw. Lymphkapillaren

Π_i = kolloidosmotischer Druck in Blutkapillaren, Interstitium bzw. Lymphkapillaren

$J_{v,c}$ = Netto-Flüssigkeitsstrom aus den Blutkapillaren

$J_{v,L}$ = Netto-Flüssigkeitseinstrom in die initialen Lymphgefäße

$J_{v,L'}$ = Lymphstrom aus den initialen Lymphkapillaren in Richtung Lymphsammelgefäße und Hauptlymphstämme

Die kolloidosmotischen und die hydrostatischen Drucke in Blutkapillaren, Interstitium und Lymphkapillaren sind so aufgebaut, daß die aus den Blutkapillaren austretende Flüssigkeit und die in ihr enthaltenen Stoffe (Elektrolyte, Lipide, Proteine) zunächst in Richtung auf das Interstitium und von dort zu den Lymphkapillaren fließen, um von diesen abtransportiert zu werden (FÖLDI, 1972; TAYLOR et al., 1973). Durch den Einstrom von Flüssigkeit aus den Blutkapillaren ins Interstitium wird dieses gedehnt und übt dabei einen Zug auf die undehnbaren "anchoring filaments" aus, mit denen die Lymphkapillaren im Gewebe verankert sind. Durch diesen Zug weichen die sich überlappenden Endothelzellen auseinander, und interstitielle Flüssigkeit und korpuskuläre Teilchen können durch die Öffnungen zwischen den Endothelzellen in die Lymphkapillaren einströmen (LEAK, 1972; FÖLDI, 1972; THULESIUS, 1973; CASLEY-SMITH, 1968, 1969; HUTH und BERNHARDT, 1977).

Steigender Druck in den Lymphkapillaren verschließt diese Öffnungen wieder. Dabei strömt ein kleiner Teil der Flüssigkeit aus den Lymphkapillaren ins Interstitium zurück, wobei jedoch Eiweißkörper und korpuskuläre Bestandteile zurückgehalten werden. Daraus resultiert ein höherer Eiweißgehalt der Lymphe,verglichen mit der interstitiellen Flüssigkeit (FÖLDI, 1972; TAYLOR et al., 1973).

Die Aufnahme von Flüssigkeit und darin gelösten Stoffen bzw. korpuskulären Bestandteilen geschieht nicht nur durch die Endothelzelljunktionen, sondern kann auch transzellulär erfolgen. Auf diesem langsameren Transportweg gelangen vor allen Dingen Stoffe mit einem Molekulargewicht von 40 000 und mehr (Plasmaproteine, Lipidmoleküle) in die Lymphkapillaren (CASLEY-SMITH, 1968; FÖLDI, 1972).

Nach der Aufnahme in die Lymphkapillaren erfolgt der Flüssigkeitstransport zu den Lymphsammelgefäßen und den Lymphstämmen relativ rasch. Die Klappen der Lymphgefäße verhindern das Zurückströmen der Lymphe in tiefer gelegene Gefäßabschnitte (LEAK, 1972; FÖLDI, 1972).

Die Zusammensetzung der Lymphe schwankt in den verschiedenen Gefäßprovinzen. So sind Eiweißkonzentrationen zwischen 1 g% (Haut) und 6 g% (Leber) in unterschiedlichen Organen gemessen worden (GAUER, 1972). Der Eiweißgehalt der Nierenlymphe beträgt nach übereinstimmenden Untersuchungsergebnissen verschiedener Autoren ca. 3 g% und ist damit etwa halb so hoch wie der Eiweißgehalt des Plasmas (HUTH, 1968; FÖLDI, 1972; KEYL et al., 1973, Mc INTOSH und MORRIS, 1971).

Aufgrund biochemischer Untersuchungen weiß man heute, daß alle diejenigen Proteine, welche im Plasma vorkommen, auch in der Lymphe nachweisbar sind. Mit Isotopenuntersuchungen konnte gezeigt werden, daß die in der Lymphe vorkommenden Proteine überwiegend aus dem zirkulierenden Plasma stammen. Nachdem sie die Blutbahn verlassen haben, nehmen sie an der "extravaskulären Zirkulation" teil. Nur ein kleiner Teil der Proteine hat seinen Ursprungsort im Gewebe selbst.

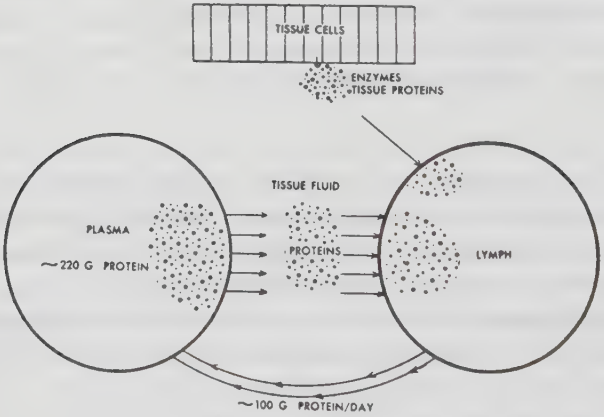

Abb. 5: Schema des Proteinaustauschs zwischen Blutplasma, Lymphe und Gewebe (aus: COURTICE, 1971).

1.4 Normale Anatomie des Nierenlymphgefäßsystems

Über das Lymphgefäßsystem der Nieren liegen mittlerweile zahlreiche licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen vor (Übersichten bei: HUTH, 1968; GRAU, 1972; KRIZ und DIETRICH, 1970). Die Lymphgefäße der Säugerniere beginnen als blindverschlossene Lymphkapillaren im Bereich der Aa. interlobularia der Nierenrinde. Von dort verlaufen sie im paravasalen Bindegewebe der Interlobulararterien bis zur Mark-Rinden-Grenze, wo sie in die Arcuata-Lymphgefäße übergehen (BABICS und RÊNYI-VÂMOS, 1955; HUTH, 1968; KRIZ und DIETRICH, 1970; KEYL et al., 1973). Im interstitiellen Bindegewebe der Nierenrinde, also zwischen den Tubuli und in direkter Nachbarschaft der Glomeruli gibt es nach Untersuchungen von KRIZ und DIETRICH (1970) keine Lymphgefäße. Im Gegensatz dazu beschreibt HUTH (1968) ein lymphatisches Kapillarnetz in der Nierenrinde, das sich auch zwischen die Tubuli erstreckt. ROJO-ORTEGA et al. (1973) stimmen zwar im wesentlichen den Ergebnissen von KRIZ und DIETRICH (1970) zu; nach ihren Untersuchungen gibt es jedoch auch Lymphkapillaren in unmittelbarer Nachbarschaft des Vas afferens des Glomerulus. In das Glomerulus selbst dringen keine Lymphgefäße ein.

Die Lymphgefäße der Rinde münden in die Arcuata-Lymphgefäße. Diese verlaufen im paravasalen Bindegewebe der Arcuata-Blutgefäße im Bereich der Mark-Rinden-Grenze. Die Lymphflüssigkeit der Arcuata-Lymphgefäße wird von den Interlobarlymphgefäßen aufgenommen, die zusammen mit den Vasa interlobaria in den Bindegewebspfeilern liegen, die rippenartig ins Nierenbecken vorspringen. Die Interlobarlymphgefäße gehen in 2 - 3 Hiluslymphgefäße über, die sich zu den abführenden Nierenlymphstämmen vereinigen. Diese münden, nachdem sie die renalen Lymphknoten passiert haben, in die Cysterna chyli (AKISADA und GEORGI, 1970; TILNEY, 1971).

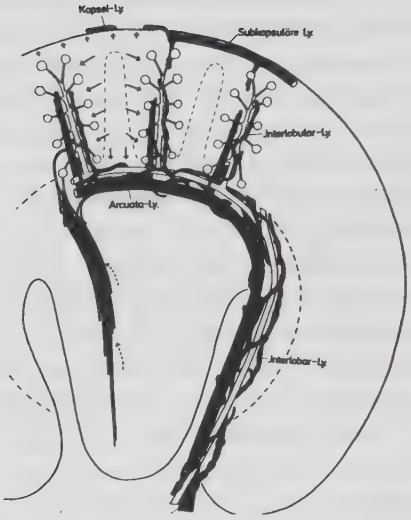

Abb. 6: Schematische Darstellung der Nierenlymphgefäße. Nierenrinde und Nierenmark sind durch eine gestrichelte Linie getrennt; in der Rinde sind durch eine dünne gestrichelte Linie die Markstrahlen abgegrenzt. Die Lymphgefäße sind schwarz, die Venen schraffiert gezeichnet, die Arterien (einschließlich der Glomeruli) sind schwarz konturiert gezeichnet (aus: KRIZ und DIETRICH, 1970).

Über die Existenz von Lymphgefäßen im Nierenmark besteht bis heute keine endgültige Klarheit. HUTH (1968) fand in seinen Untersuchungen an Kaninchen Lymphkapillaren in der Medulla, die zusammen mit den Vasa recta radiär im Parenchym verlaufen und die schließlich in die Arcuata-Lymphgefäße an der Mark-Rinden-Grenze

münden sollen. Die Zahl der Lymphkapillaren soll dabei von der Papille bis zur äußeren Markzone kontinuierlich zunehmen. COCKETT (1977) und CLARK et al. (1977) beschreiben ebenfalls Lymphkapillaren im Mark von Hundenieren, während Keyl et al. (1973) bei Hunden und Mc INTOSH und MORRIS (1971) bei Schafen das Vorkommen von Lymphgefäßen im Nierenmark verneinen.

Zum gleichen Ergebnis kommen KRIZ und DIETRICH (1970) in ihren detaillierten Untersuchungen über das Lymphgefäßsystem der Säugerniere. Bei keinem der von ihnen untersuchten Säuger (Hund, Katze, Meerschweinchen, weiße Ratte, Bisamratte, Wüstenmaus, weiße Maus und Goldhamster) konnten sie Lymphgefäße im Nierenmark oder Mündungsstellen solcher Marklymphgefäße in Arcuata-Lymphgefäße nachweisen.

Histologisch besitzen die Nierenlymphgefäße fast in ihrem gesamten Verlauf von der Nierenrinde bis zu den Interlobarlymphgefäßen einen kapillären Wandbau, d.h. die Endothelzellen grenzen ohne Basalmembran an das umgebende paravasale Bindegewebe. Erst im Bereich der Interlobarlymphgefäße verliert die Lymphgefäßwand ihre kapilläre Struktur. Streckenweise sind die Endothelzellen jetzt von einer Membrana accessoria und glatten Muskelfasern unterlagert.

In den Arcuata- und Interlobarlymphgefäßen lassen sich - trotz ihres kapillären Wandbaus - zahlreiche Klappen nachweisen. KRIZ und DIETRICH (1970) nennen diesen Gefäßtyp in Anlehnung an OTTAVIANI und AZZALI (1966) und LIMBORGH (1966) "postkapilläre Lymphgefäße".

Die Wand der Hiluslymphgefäße besteht aus einer schmalen, lückenlosen Endothelzellschicht, die von einer wechselnd starken Membrana accessoria aus kollagenen Fasern und eingestreuten Fibrozyten umgeben ist. Gelegentlich lassen sich einige glatte Muskelzellen nachweisen. Eine Basalmembran ist nur unvollkommen ausgebildet (KRIZ und DIETRICH, 1970).

Die Nierenlymphgefäße verlaufen in unmittelbarer Nachbarschaft

der Blutgefäße, und zwar in dem lockeren Bindegewebe, welches die Gefäße von den Aa. interlobulares bis hin zu den Hiluslymphgefäßen umgibt (SWANN et al., 1970; KRIZ und DIETRICH, 1970). Die membranartigen Fibrozytenausläufer dieses Gewebes bilden ein vielfach gekammertes System, das mit den Gefäßen in Richtung Nierenhilus verläuft. Damit existiert in der Niere ein ausgedehntes paravasales System in der Definition von OTTAVIANI (1959).

Das paravasale Gewebe grenzt unmittelbar an die Nierentubuli und die Glomeruli und geht zwischen den Tubuli über in das spärliche intertubuläre Interstitium (KRIZ und Dietrich, 1970). Lymphgefäße, die außerhalb des Nierenparenchyms unmittelbar unter der Nierenkapsel verlaufen, und die Verbindungen zum intrarenalen Lymphgefäßsystem haben, wurden bisher bei Hunden und Katzen beschrieben (COCKETT et al., 1970; HOLMES et al., 1977; KRIZ und DIETRICH, 1970). In der Rattenniere konnten sie nicht nachgewiesen werden (KRIZ und DIETRICH, 1970; CREMER und MÜLLER, 1972).

1.5 Lymphbildung in der Niere

Die Bildung der Nierenlymphe geschieht nach Ansicht von KRIZ und DIETRICH (1970), Mc INTOSH und MORRIS (1971) und KEYL et al. (1973) fast ausschließlich in der Nierenrinde. Nur zu einem sehr kleinen Teil soll - wenn überhaupt - eine Lymphbildung im Nierenmark stattfinden. Als Quelle für die Nierenlymphe kommen dabei sowohl ein Ultrafiltrat aus den postglomerulären Blutkapillaren als auch das Rückresorbat aus den Tubuli in Betracht. Die Gesamtmenge der gebildeten Nierenlymphe entspricht ungefähr der Gesamtmenge des gebildeten Harns. Nach Ansicht von KRIZ und DIETRICH (1970) bilden die Aa. interlobulares zusammen mit dem sie umgebenden paravasalen Gewebe und den darin verlaufenden Lymphgefäßen sogenannte "Drainagestraßen", die in regelmäßigen Abständen von der Mark-Rinden-Grenze in die Rinde vorgeschoben sind.

Das interstitielle Bindegewebe zwischen den Tubuli, das nach RUSZNYAK et al. (1969) zum prälymphatischen System gehört, steht in freier Verbindung mit dem paravasalen Gewebe der Aa. interlobulares und in geringerem Ausmaß auch in Verbindung mit dem paravasalen Bindegewebe der Vasa arcuata und interlobaria. Flüssigkeit, gelöste oder korpuskuläre Teilchen können leicht aus den interstitiellen Räumen des Rindenparenchyms in diese Drainagestraßen des paravasalen Gewebes gelangen, in denen nach Meinung von KRIZ und DIETRICH (1970) ein ständiger Flüssigkeitsstrom in Richtung Nierenhilus denkbar ist.

Die Lymphgefäße im paravasalen Gewebe weisen von den Rinden- bis zu den Interlobargefäßen einen kapillären Wandbau auf, d.h. sie sind äußerst permeabel und fast in ihrem gesamten Verlauf in der Lage, Flüssigkeit und gelöste Teilchen sowie partikuläre Stoffe aus dem umgebenden paravasalen Gewebe aufzunehmen. Die Lymphklappen in den Arcuata- und Interlobargefäßen weisen dabei bereits auf die Transportfunktion dieser Gefäßabschnitte hin.

Theoretisch müßten demnach zwischen den Drainagestraßen in der Nierenrinde sogenannte "Wasserscheiden" existieren, d.h. lymphgefäßfreie Räume, aus denen die interstitielle Flüssigkeit mittels eines Sickervorgangs zu den beiden nächstgelegenen Drainagestraßen abfließt.

1.6 Experimentelle Lymphstase - Stand der Forschung

Eine Lymphstauung, die schließlich zu einem interstitiellen und intrazellulären Ödem führt, kann nach FÖLDI (1972) auf drei verschiedene Arten entstehen:

a) mechanisch, z.B. durch Verschluß der abführenden Lymphgefäße
b) dynamisch; dabei besteht ein Mißverhältnis zwischen Lymphbildung und Transportkapazität des Lymphgefäßsystems. Zu einer dynamischen Insuffizienz kann es bei einer Abnahme des kolloidosmotischen Druckes oder einer Zunahme des venösen Druckes

im Blutgefäßsystem kommen. Beide Mechanismen führen zu einem vermehrten Ausstrom von Flüssigkeit aus dem Blutgefäßsystem und zu einer vermehrten Lymphbildung, wodurch das Lymphgefäßsystem kurzfristig überfordert wird.

c) durch Versagen der Sicherheitsventilfunktion des Lymphgefäßsystems. Dies kann man gut am Beispiel der Nierenfunktion erläutern: Eine einseitige Ureterunterbindung führt bei der zugehörigen Niere zu einer starken Entfaltung des intrarenalen Lymphgefäßsystems und zu einem Anstieg des Lymphabflusses aus der Niere. Über die Lymphgefäße werden der weiter erzeugte Urin sowie toxische Substanzen aus dem Nierenparenchym abtransportiert und dieses so vor vorzeitigem Untergang geschützt. Eine Kombination von Ureterunterbindung mit einer radikalen Lymphabflußblockade führt dagegen sehr schnell zu einer diffusen Nekrose des Nierenparenchyms.

Die Folgen einer tierexperimentell erzeugten Lymphstase sind in der Vergangenheit wiederholt mit den Mitteln der Licht- und Elektronenmikroskopie untersucht worden.

In den parenchymatösen Organen findet man im akuten Stadium der Lymphstase ein interstitielles und intrazelluläres Ödem sowie Einzelzellnekrosen oder gar Mikroinfarkte. Im chronischen Stadium stellt sich eine leichte Organatrophie mit einer Fibrose des Interstitiums dar. Sofern diese morphologischen Veränderungen mit einer Störung der Organfunktion einhergehen, wird von einer "lymphogenen Nephrose" (KAISERLING und SOOSTMEIER, 1939) bzw. einer "lymphostatischen Nephropathie" (HUTH, 1968; CREMER und MÜLLER, 1972), einer "lymphostatischen Encephalopathie" (FÖLDI et al., 1968), einer "lymphostatischen Cardiopathie" (KLINE et al., 1963; MILLER et al., 1963; CREMER et al., 1973), einer "lymphostatischen Hepatopathie" (CREMER et al., 1975, 1974; HUTH, 1974; LIE et al., 1974) gesprochen.

1.7 Experimentelle Lymphstase in der Niere

KAISERLING und SOOSTMEIER (1939) waren die Ersten, denen die experimentelle Erzeugung eines Lymphödems in der Niere gelang. Sie unterbanden die abführenden Lymphgefäße am Nierenhilus bei Kaninchen. Bereits nach 15-20 Minuten konnten sie eine Anschwellung des Organs bis fast auf das Doppelte der ursprünglichen Größe beobachten. Histologisch fanden sie außer den dilatierten Lymphgefäßen ein ausgeprägtes interstitielles Ödem. Neuere Untersuchungen von HUTH (1968) und CREMER und MÜLLER (1972) bestätigen und ergänzen diese Befunde.

HUTH (1968) fand bei seinen Untersuchungen an Kaninchennieren bereits kurze Zeit nach Unterbindung der Lymphgefäße am Nierenhilus blaß-eosinophile Streifen, die vor allen Dingen neben den Harnkanälchen und Blutkapillaren in der Außenzone des Marks auftraten. Nach 2-24 Stunden fanden sich in den Zellen der distalen Tubuli und der Sammelrohre eine teils diffus-ödematöse, teils mehr vakuolige Aufhellung des Cytoplasmas. Die stärksten Epithelveränderungen fanden sich 24 Stunden postoperativ im Bereich der Mittelstücke, also vorwiegend im Außen- und Innenstreifen des Marks. Fast alle Zellen waren ödematös aufgetrieben, das Tubuluslumen war häufig zugeschwollen. Im Bereich der Mittelstücke war auch die ödematöse Durchtränkung des Interstitiums am ausgeprägtesten. Nach 48 Stunden war ein eiweißreiches, acidophiles Ödem in allen Zonen deutlich sichtbar. In den folgenden Versuchstagen (4.-7. Tag) nahm die Schwellung der Hauptstückepithelien in der Nierenrinde ständig zu. Eine geringgradigere, teils grobvakuolige Schwellung fand sich auch in den Tubulusepithelien des Außen- und Innenstreifens.

Noch nach 14 Tagen traten im Epithel der Henle'schen Schleifen und der distalen gewundenen Tubuli vereinzelte Epithelnekrosen sowie vermehrte Mitosen auf. In den Lumina der Mittel- und Schaltstücke lagen einzelne Zell- und Eiweißzylinder.

Die Schwellung der Epithelzellen in der Rinde nahm relativ rasch wieder ab: nach 14 Tagen waren dort außer einer Verdichtung des

Cytoplasmas einzelner Epithelzellen keine Veränderungen mehr nachweisbar. Nach 4-6 Wochen waren die Epithelzellen sämtlicher Nephronabschnitte wieder als "normal" zu bezeichnen, d.h. sie wiesen licht- und elektronenmikroskopisch keinerlei Veränderungen mehr auf. Lediglich im Interstitium war eine geringgradige herdförmige Sklerosierung zu erkennen.

CREMER und MÜLLER (1972) haben lichtmikroskopisch die Veränderungen an Rattennieren nach Unterbindung des Ductus thoracicus vor seinem Eintritt in den linken Venenwinkel untersucht. Sie fanden während der ersten 10 Versuchstage zunächst eine starke Erweiterung der periarteriellen Räume um die Aa. interlobularia, Aa. arcuata und geringer um die Aa. interlobaria.

Während Glomeruli und Bowmansche Kapsel unverändert blieben, wiesen die Epithelzellen der aufsteigenden Henleschen Schleifen sowie der Tubuli contorti II ab dem 4.-5. Tag eine ödematöse Durchtränkung ihres Cytoplasmas auf, d.h. diese Veränderung umfaßten sowohl Tubulusepithelien der Nierenrinde als auch solche des Außen- und Innenstreifens im Mark.

Die Schwellung der Epithelzellen erreichte am 8.-9. Tag ihre stärkste Ausprägung und ging über ein apikales Zellödem bis zur völligen Verlegung der Tubuluslichtung. Mit zunehmender Versuchsdauer fanden sich nekrotische, in die Tubuluslichtung hinein abgestoßene Epithelien.

In der Innenzone, in den Epithelien der Sammelrohre, war bereits am 2. Tag eine diffuse ödematöse Schwellung des Cytoplasmas sichtbar. Nach dem 5. postoperativen Tag konnte man in zunehmendem Maße Eiweißzylinder in den marknahen Anteilen der Sammelrohre nachweisen. Sie wanderten im weiteren Verlauf zur Papillenspitze.

Eine Vermehrung interstitieller Zellen war vom 1.-5. Versuchstag weder in der Rinde noch im Nierenmark nachweisbar.

Vom 11.-15. Versuchstag nahm die ödematöse Auflockerung des periarteriellen Raumes zwar ab, war aber noch deutlich sichtbar. Die

ödematöse Schwellung der verschiedenen Nephronabschnitte von der Rinde bis zum Innenstreifen hatte sich weitgehend zurückgebildet, sodaß die Lichtungen wieder freigegeben waren.Die ödematöse Schwellung der Sammelrohrepithelien bestand jedoch fort, Eiweißzylinder waren ebenfalls noch nachweisbar.

Eine Vermehrung interstitieller Zellen war auch jetzt nicht erkennbar. Im periarteriellen Raum traten nach ca. 14 Tagen vermehrt rundzellige Infiltrate auf. Nach 4-6 wöchiger Versuchsdauer waren die Veränderungen an den Epithelien fast vollständig wieder zurückgegangen.

Im Langzeitversuch über 360 Tage war nach ca. 110 Tagen lediglich lichtmikroskopisch eine geringgradige Bindegewebsvermehrung der Kapsel und der periarteriellen Räume erkennbar. Eine diffuse Sklerosierung der Niere oder größere Narbenfelder waren nicht nachweisbar. Allerdings bemerkten CREMER und MÜLLER (1972) bei den Langzeittieren eine deutliche Atrophie der untersuchten Nieren. Sie fanden einen Gewichtsverlust von 23,9 % innerhalb eines Versuchszeitraums von 109 Tagen und eine Abnahme der Kernflächen um 17,5 % gegenüber den Werten bei gesunden Kontrolltieren.

Die beschriebenen morphologischen Veränderungen an den Tubuluszellen der Nieren bleiben verständlicherweise nicht ohne Folgen für die Nierenfunktion: Mit der Unterbindung der Lymphgefäße verliert die Niere ihre Fähigkeit, einen konzentrierten Urin zu produzieren (FÖLDI, 1972; HUTH, 1972). Das Urinvolumen nimmt nach der Ligatur der Lymphgefäße stark zu. Gleichzeitig steigt auch die Ausscheidung von Kalium, Natrium, Ammonium und Harnstoff ganz erheblich an, und es kommt zu einer erheblichen Proteinurie (TORMENE et al., 1963; STOLARCZYK and CARONE, 1975; CREMER und MÜLLER, 1972).

1.8 Autoradiographie

1.8.1 Entwicklung, Technik und Aufgaben der Autoradiographie

Die ersten Untersuchungen über den Einbau radioaktiv markierter Substanzen in biologische Gewebe gehen auf LEBLOND und BELANGER (1946) sowie PELC (1947) zurück. Im Gegensatz zu biochemischen Untersuchungen, die den Einbau radioaktiv markierter Verbindungen nur in relativ großen Gewebsbereichen messen können , ermöglicht die Autoradiographie durch Verabreichung radioaktiv markierter Vorläufersubstanzen, die als Bausteine in den Stoffwechsel eingeschleust und in Zell- und Gewebsstrukturen eingebaut werden, die genaue Lokalisierung bestimmter Syntheseleistungen des Stoffwechsels. Somit können Stoffwechseluntersuchungen auch im zellulären und - unter Anwendung der Elektronenmikroskopie - auch im subzellulären Bereich unter Erhalt des zu untersuchenden Gewebsverbandes bzw. der Zellstruktur durchgeführt werden. Hierfür ist das Auflösungsvermögen der Autoradiographie von entscheidender Bedeutung. Darunter versteht man in der Autoradiographie den kleinsten Abstand, bei dem zwei Strahlungsquellen gleicher Radioaktivität im Autoradiogramm noch als getrennte Schwärzungen erkennbar sind (LAMBERTON und HARRISS, 1954).

Einen wesentlichen Einfluß auf das Auflösungsvermögen haben folgende vier Faktoren (s. Abb. 7):

1. Schnittdicke des Autoradiogramms (D_1)
2. eine evtl. zwischen Schnittoberfläche und Emulsion vorhandene Zwischenschicht (D_2)
3. Korngröße der photographischen Emulsion (D_3)
4. Art der emittierten Strahlung

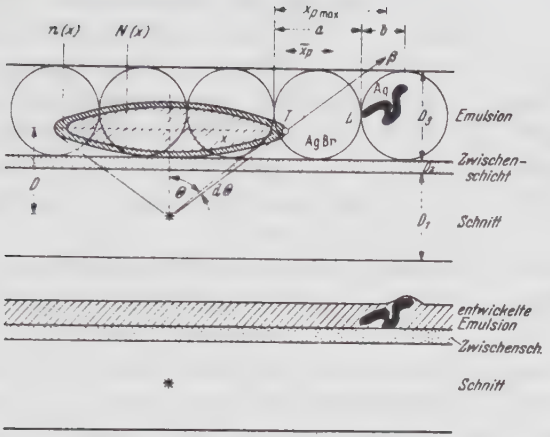

Abb. 7: Schema zur Herstellung von Autoradiogrammen. Erläuterungen s. Text (aus: REIMER, 1967).

Ad 1: Die in einem bestimmten Gewebsschnitt enthaltene Radioaktivität nimmt mit sinkender Schnittdicke ab, die Expositionszeiten der Filme müssen entsprechend verlängert werden. Doch gestattet der 2 - 5 μ dünne Gewebsschnitt eine wesentlich bessere Zuordnung der autoradiographischen Schwärzung zu ganz bestimmten Zellstrukturen.

Ad 2: Ferner beeinträchtigt die zwischen Schnittoberfläche und Emulsion gelegene Zwischenschicht das Auflösungsvermögen ganz wesentlich. Nach Untersuchungen von CHAPMAN-ANDRESEN (1953) sinkt das Auflösungsvermögen bei Verbreiterung der Zwischenschicht von 0,1 auf 3 μ von 2,3 auf 8,2 μ ab. Übereinstimmend schlagen zahlreiche Untersucher vor, nach Möglichkeit auf eine solche Zwischenschicht ganz zu verzichten (STEVENS,1948, 1950; DONIACH und PELC, 1950; HARRISS, 1956; PELC, 1956, 1957; BLEECKEN, 1961).

Ad 3: Auch die Korngröße der photographischen Emulsion hat Einfluß auf das Auflösungsvermögen. Feinkörnige Emulsionen liefern ein schärferes Bild von einer punktförmigen Strahlenquelle als grobkörnige Emulsionen. Die in der Autoradiographie verwendeten Emulsionen besitzen einen Korngrößendurchmesser von ca. 0,04 - 0,3 μ (zum Vergleich: hoch empfindlicher Röntgenfilm: 0,2 - 0,3 μ). Emulsionen dieser Art besitzen eine geringe Empfindlichkeit, was längere Expositionszeiten nach sich zieht. Teilweise wird die geringere Empfindlichkeit aber auch durch Erhöhung der Zahl der Silberbromidkristalle kompensiert (AMLACHER, 1974).

Ad 4: Schließlich spielt die Art des verwendeten Strahlers eine große Rolle für die Auflösung. Während die Gammastrahlung eines Radioisotops zum autoradiographischen Effekt nicht beiträgt, da die Gammaquanten im Material der photographischen Emulsion eine sehr kleine Absorptionswahrscheinlichkeit haben, haben sich für die Autoradiographie neben den Alpha- und K-Strahlern vor allen Dingen Beta-Teilchen-emittierende Radioisotope durchgesetzt (^{3}H, ^{14}C, ^{32}S). Gegenüber den Alpha-Teilchen, die aufgrund ihrer großen Masse im Gewebe eine relativ große Reichweite von 30 - 80 μ besitzen und auf ihrem gradlinigen Bahnverlauf eine große Ionisationsdichte erzeugen, die in der photographischen Emulsion in jedem durchquerten Silberbromidkristall entwicklungsfähige latente Bilder erzeugt, ist beim Beta-Zerfall die Energie der emittierten Elektronen oder Positronen nicht einheitlich. Dieser Umstand sowie die Tatsache, daß die Ionisationsdichte eines Beta-Teilchens längs der Bahnspur etwa 100mal geringer als die der Alpha-Teilchen ist, verhilft den Beta-Teilchen in einem Absorber bei gegebener Energie zu einem längeren Bahnverlauf.

Unter den Beta-Strahlern nimmt das Tritium eine Sonderstellung ein, weil es die beste autoradiographische Auflösung liefert. Hinzu kommt, daß aufgrund der geringen mittleren Energie der Beta-Teilchen von 5,7 KeV die Schwär-

zung der photographischen Emulsion auf eine ca. 1 μ dicke Schicht begrenzt ist, die dem markierten Schnitt unmittelbar aufliegt. Andererseits trägt nur eine ebenfalls 1 μ dicke, der Emulsion zugewandte Schicht des Gewebsschnittes zum autoradiographischen Bild bei (ROBERTSON, BOND und CHRONKITE, 1959). Alle diese Umstände erklären das hohe Auflösungsvermögen tritiummarkierter Substanzen, das für die Lichtmikroskopie bei ca. 0,7 μ liegt (BLEECKEN, 1961).

Die von einer markierten Zelle emittierten Beta-Elektronen führen bei ihrem Durchgang durch die photographische Emulsion zur Ionisation und damit zur Bildung freier Elektronen im Gitter der Silberbromidkristalle. Unregelmäßigkeiten im Gitter der Silberbromidkristalle halten die freien Elektronen fest und führen an dieser Stelle des Gitters zu einer negativen Aufladung, die durch Silberionen neutralisiert wird, sodaß metallisches Silber und somit das latente photographische Bild entsteht. Dieses latente Bild wird dann durch die Entwicklung der Filmschicht sichtbar gemacht.

Eine Reihe weiterer Faktoren kann ebenfalls zur Entstehung von latenten Bildern in der Photoschicht führen. Dazu gehören z.B. Druck auf die Emulsion bei zu starker Trocknung der Gelatine, Fingerabdrücke auf dem Objektträger oder Hitzeeinwirkung. Diese Faktoren bewirken den sogenannten "background" oder "Nulleffekt" im Autoradiogramm. Darunter versteht man Schwärzungen in der Photoemulsion, die nicht durch die von einer markierten Zelle emittierten Elektronen ausgelöst wurden. Solche Artefakte sind insbesondere bei der quantitativen Auswertung von Autoradiogrammen zu beachten.

Andererseits können gerade bei feinkörnigen Emulsionen Feuchtigkeit und hoher Sauerstoffgehalt während der Expositionszeit zum irreversiblen Auslöschen latenter Bilder führen (Fading-Effekt). Deshalb sind während der Ex-

positionszeit konstante Versuchsbedingungen erforderlich (AMLACHER, 1974). Zu diesem Fading-Effekt kann aber auch das Fixationsmedium, in das die untersuchten Gewebsproben eingebracht werden, führen. Durch manche Fixationsmittel wird häufig ein Teil der in den Zellen enthaltenen markierten Substanzen herausgelöst, nicht jedoch die stabile, unlösliche DNS. Am besten geeignet sind neutrales Formalin sowie Formalin mit 0,5 %igem Trichloressigsäurezusatz für die Fixation markierter DNS. Ein Verlust an Radioaktivität oder an Masse der DNS oder des Eiweißes tritt bei den gebräuchlichen Fixationsmitteln nicht ein. Die histologischen Präparate können nach der Fixation entweder vor dem Aufbringen der photographischen Emulsion oder im Anschluß an die Exposition der Autoradiogramme gefärbt werden. Dabei ist zu berücksichtigen, daß einige Farbstoffe die Emulsion angreifen. Doch die üblichen Routinefärbungen wie Hämalaun, Hämatoxylin-Eosin, basisches Fuchsin, Methylenblau, Azurblau, Giemsa, Chresylviolett und PAS sowie hämatologische Färbungen können ohne Bedenken verwendet werden (SCHULTZE, 1968).

1.8.2 Aussagekraft von Autoradiogrammen

Seit durch Untersuchungen von REICHARD und ESTBORN (1951) das Thymidin als spezifischer Vorläufer für die DNS-Synthese erkannt worden war, gelang es einer Reihe von Autoren, Thymidin mit Tritium zu markieren (TAYLOR, WOODS und HUGHES, 1957; HUGHES, 1957; VERLY und HUNEBELLE, 1957; FIRKET und VERLY, 1958). Dabei erfolgt die Bindung des Tritiums an den Methylrest des Thymidins.

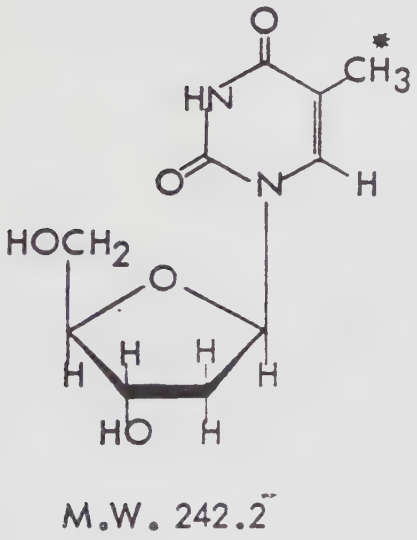

Abb. 8: Strukturformel des Thymidin (Methyl-^{3}H).

Mit dem Tritium-Thymidin hatte man eine Substanz mit hohem autoradiographischen Auflösungsvermögen gefunden, die sich außerdem durch hohe DNS-Spezifität und selektive Markierung der DNS und damit des Zellkerns auszeichnet.

Durch die Autoradiographie sind neben rein qualitativen auch quantitative Aussagen über den Schwärzungsgrad verschiedener Zellen, Zellelemente oder Zellprodukte möglich geworden. Die einfachste Form der quantitativen Analyse ist die Silberkornzählung, die im Vergleich mit der Silberkornzahl von Testautoradiogrammen mit bekannter Radioaktivität zur Bestimmung der in einem zu untersuchenden Gewebsschnitt vorhandenen Radioaktivität führen kann. MAURER und PRIMBSCH (1964) errechneten für tritiummarkierte Autoradiogramme von 3 μ Dicke 16 Zerfallsprozesse pro Silberkorn und gaben die Zahl der pro entwickelbares Silberkorn benötigten Elektronen mit 2,4 an. Da die Beta-Teilchen des Tritiums in der Regel nicht mehr als ein Silberkorn erzeugen, eignet sich das ^{3}H-markierte Autoradiogramm sehr gut für quantitative Untersuchungen.

1.8.2.1 Der Zellzyklus und seine Teilphasen

Ganz besondere Bedeutung gewann die Autoradiographie für die DNS-Synthese sowie für die Bestimmung der verschiedenen Teilphasen des Generationszyklus. Seit HOWARD und PELC (1951, 1953) aus ihren Versuchen als erste geschlossen hatten, daß die DNS-Verdoppelung auf einen bestimmten Teil der Interphase beschränkt ist, wurde es durch die Autoradiographie möglich, die Dauer der einzelnen Zyklusteilphasen zu bestimmen.

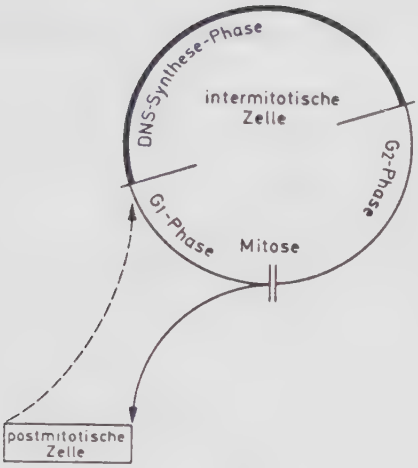

Abb. 9: Der Zellzyklus (aus:DUSPIVA, 1971).

Nach den von HOWARD und PELC (1951, 1953) aufgestellten und auch heute noch anerkannten Vorstellungen über den Ablauf des Zellzyklus in 4 Teilphasen:

G_1: Postmitotische präsynthetische Ruhephase
S : DNS-Synthesephase
G_2: Postsynthetische prämitotische Ruhephase
M : Mitose

macht die Autoradiographie es möglich, die Länge des gesamten Zellzyklus sowie die Zeitdauer für die einzelnen Phasen des Generationszyklus zu bestimmen und somit Aussagen über das Proliferationsverhalten von Geweben zu machen.

Hierfür haben sich im wesentlichen drei Untersuchungsmethoden bewährt:

- Pulsmarkierung mit ^{3}H-TdR
- Doppelmarkierung mit ^{3}H-TdR und ^{14}C-TdR
- Dauerinfusion mit ^{3}H-TdR oder wiederholte Pulsmarkierungen mit ^{3}H-TdR

1.8.2.1.1 Pulsmarkierung mit ^{3}H-TdR

Durch eine einmalige ^{3}H-Thymidininjektion werden alle diejenigen Zellen radioaktiv markiert, welche sich während der Verfügbarkeitszeit des ^{3}H-Thymidin (40 - 60 min) in der S-Phase befinden. Durch die Gabe des markierten Thymidin wird eine markierte, partiell synchronisierte Subpopulation geschaffen. Das markierte Thymidin wird bei der DNS-Synthese nicht als fremd erkannt und wie unmarkiertes Thymidin inkorporiert.

Zur Charakterisierung der proliferativen Aktivität von Geweben werden der Markierungsindex sowie der Mitoseindex verwendet. Der Markierungsindex (labeling index = L.I.) beschreibt das Verhältnis der markierten Zellen (N_s) zur Gesamtzahl der ausgezählten Zellen (N_t):

$$L.I. = \frac{N_s}{N_t} \times 100 \qquad (1)$$

Der Mitoseindex (M.I.) beschreibt das Verhältnis der markierten Zellen in der Mitose zur Gesamtzahl der ausgezählten Zellen (N_t):

$$M.I. = \frac{N_M}{N_t} \times 100 \qquad (2)$$

Der Markierungsindex ist dem Mitoseindex aus zwei Gründen vor-

zuziehen: Die quantitative Ermittlung von Mitosefiguren im fixierten Gewebe ist oft schwierig und die Dauer der S-Phase ist im allgemeinen um den Faktor 10 länger als die Mitosedauer. Damit ist die Anzahl der mit ^{3}H-Thymidin pulsmarkierten Zellen auch um etwa das Zehnfache höher als diejenige der Mitosen, was einer genaueren statistischen Bestimmung zugute kommt.

Innerhalb einer Zellpopulation sind nicht alle Zellen an der Proliferation beteiligt, sondern es beteiligt sich immer nur ein ganz bestimmter Anteil der Zellen (N_c) an der Proliferation, während andere Zellen unter zunehmender funktioneller Differenzierung teilungsunfähig werden (N_f), z.B. Zottenepithelien, Ganglienzellen etc., bzw. vorübergehend aus dem Proliferationspool ausscheiden (N_{G_o}). Die Gesamtzellpopulation (N_t) umfaßt also sehr heterogene Kompartimente:

$$N_t = N_c + N_f + N_{G_o} \qquad (3)$$

N_t = alle Zellen der Gesamtpopulation
N_c = alle proliferierenden Zellen
N_f = alle proliferationsunfähigen Zellen
N_{G_o} = alle proliferationsfähigen, aber ruhenden Zellen

Bei der Ermittlung des Markierungsindex werden diese Subkompartimente nicht berücksichtigt, weshalb der Markierungsindex allein auch nur zu einer groben Abschätzung der Proliferationsrate führen kann. Überschlagsmäßig können mindestens folgende sechs Möglichkeiten zu einer Veränderung (z.B. Erniedrigung) des Markierungsindex führen:

1.: Eine Verkürzung der S-Phase (T_s) bei gleichzeitiger Verlängerung einer oder mehrerer anderer Teilphasen, so daß die Gesamtdauer des Zellzyklus (T_c) konstant bleibt:

$$L.I. = \frac{T_s}{T_c = \text{konst.}} \qquad (4)$$

2.: Eine Verlängerung der Zellzyklusdauer unter der Voraussetzung, daß die S-Phasendauer sich nicht verändert, aber die eine oder andere Teilphase länger wird:

$$L.I. = \frac{T_s = \text{konst.}}{T_c} \qquad (5)$$

3.: Ein Ausscheiden von Zellen aus dem Proliferationspool, d.h. eine Abnahme von N_c zugunsten von N_{G_o}:

$$L.I. = \frac{N_c}{N_{G_o}} \qquad (6)$$

4.: Eine Kombination von 1 - 3.

5.: Selbst wenn sich die S-Phase und die Zellzyklusdauer um den gleichen Betrag vergrößern, kann es dennoch nach

$$L.I. = \frac{N_c}{N_t} \times 100 \qquad (7)$$

zu einer Reduzierung des Markierungsindex kommen, wenn nämlich die Wachstumsfraktion abnimmt.

Als Wachstumsfraktion (G.F. = growth fraction) wird dabei das Verhältnis aller proliferierenden Zellen zur Gesamtzahl der Zellen bezeichnet (MENDELSOHN, 1960, 1962)

$$G.F. = \frac{N_c}{N_t} \qquad (8)$$

Aus alle dem geht hervor, daß eine Änderung der Markierungsindices ohne weitere Aussagen über Zykluslänge, Teilphasen bzw. G.F. höchstens einen groben Hinweis auf das Vorliegen einer Änderung im Proliferationsverhalten der untersuchten Zellpopulationen geben kann.

Mit der Methode der Pulsmarkierung werden Zellen in der S-Phase markiert. Mit zunehmendem Abstand zwischen der ^{3}H-TdR-Injektion und der Tötung des Versuchstieres wandern immer mehr markierte Zellen über die G_2-Phase in die Mitose. Ist die Überlebenszeit der Tiere kleiner als die Länge der G_2-Phase, treten keine markierten Mitosen auf. Ist dagegen die Zeitspanne, die zwischen Injektion und Tötung des Tieres verbleibt, größer als die Summe von G_2 + M, dann können alle Mitosen markiert werden. Ist die Versuchsdauer länger als die Summe von G_2 + M + S-Phase, so treten auch wieder unmarkierte Mitosen auf.

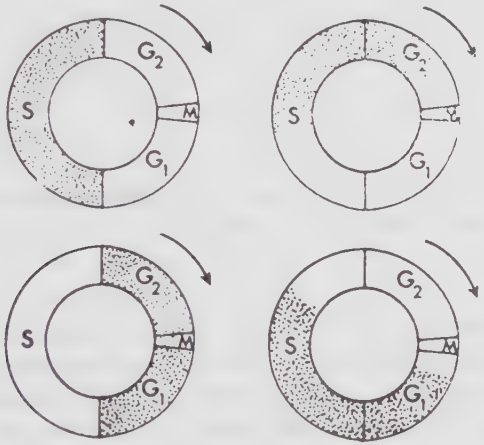

Abb. 10: Schema des Zellzyklus. Erläuterungen s. Text (aus: BASERGA und MALAMUD, 1977).

Mit Hilfe der von QUASTLER und SHERMAN (1959) eingeführten "Prozent-markierte-Mitosenmethode" ist es möglich, die Dauer von Teilphasen des Zellzyklus zu bestimmen.

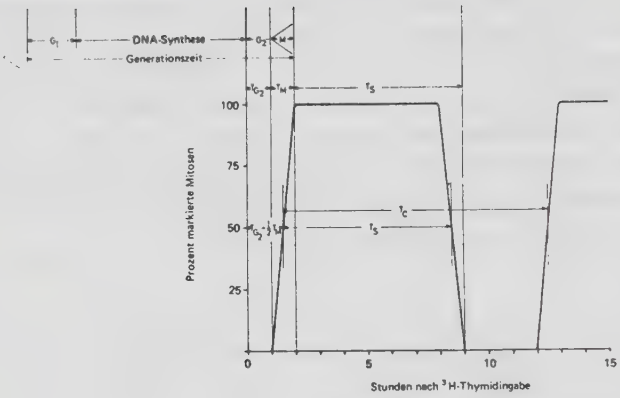

Abb. 11: Schematische Darstellung der Prozent-markierte-Mitosen-Kurve (aus: HOELZER, 1978).

Die Zeit vom ersten Auftreten markierter Mitosen bis zum ersten Wiederauftreten unmarkierter Mitosen entspricht der Dauer der S-Phase. Im allgemeinen wird der Wert für die S-Phasen-Dauer zwischen den beiden 50 %-Werten des auf- und absteigenden Schenkels der Kurven abgelesen. Dieser Schnittpunkt der 50 %-Werte der markierten Mitosen mit dem auf- und absteigenden Schenkel der Kurven ist einmal leichter zu bestimmen, und zum anderen entspricht dieser Wert besser der mittleren S-Phasendauer. Die S-Phase dauert bei vielen Zellarten des erwachsenen Tieres im Mittel 7 - 8 Stunden (SCHULTZE, 1968).

Die zeitliche Differenz zwischen zwei markierten Mitosewellen entspricht der gesamten Generationszeit einer Zellpopulation. Aus der "Prozent-markierte-Mitosen-Kurve" (PLM-Kurve) lassen sich nicht nur die S-Phasendauer und die Länge des Generationszyklus, sondern auch die Dauer von G_2 und M bestimmen. Der Zeitraum zwischen dem Zeitpunkt "Null" der Kurve und dem ersten Auftreten

markierter Mitosen entspricht dem Minimalwert für die Dauer von G_2. Die Zeit zwischen Null und dem Erreichen des 100 %-Wertes der Kurve gibt den Maximalwert für die Dauer von G_2 + M wieder. Ist der Anstieg der Kurve weitgehend gradlinig, so gestattet er eine Abschätzung der Dauer der Mitose.

Die Dauer der G_1-Phase läßt sich schließlich leicht erreichnen:

$$T_{G_1} = T_c - (T_s + T_{G_2} + T_M) \qquad (9)$$

Die G_1-Phase ist diejenige Zellzyklusphase mit den größten zeitlichen Variabilitäten in den verschiedenen Zellsystemen. Sie ist nach EPIFANOVA (1965) zahlreichen Faktoren unterworfen.

Dazu zählen:
1. Alter des Tieres
2. Verletzungen
3. Hormonale Einflüsse
4. Toxische Substanzen und Medikamente
5. Körper- und Umgebungstemperatur
6. Bestimmte Strahlen (Gamma- und Röntgenstrahlen)

Die Aussagekraft derartiger PLM-Kurven kann weiter durch tageszeitliche Schwankungen beeinträchtigt werden, die innerhalb von 24 Stunden um den Faktor 2 - 5 variieren können (PILGRIM et al., 1963, 1965). Vergleichbare Untersuchungen sollten daher immer zur gleichen Tageszeit durchgeführt werden.

Bei Geweben mit geringer Proliferationsaktivität ist die Methode der Bestimmung von Zellzykluszeiten wegen der geringen Zahl der Mitosen sehr aufwendig. Für diese Gewebe ist die Bestimmung der S-Phasendauer mit Hilfe der Doppelmarkierung von größerem Vorteil, weil dabei die etwa 10mal häufigeren markierten S-Phasenkerne zur Beobachtung kommen.

1.8.2.1.2 Doppelmarkierung mit ^{3}H-TdR und ^{14}C-TdR

Neben der ^{3}H-TdR-Pulsmarkierung führten HILSCHER und MAURER (1962) die Doppelmarkierungsmethode mit ^{3}H-TdR und ^{14}C-TdR ein. Unter definierten Versuchsbedingungen ist hierbei durch die Gabe von radioaktiv unterschiedlich markiertem Thymidin in einem bestimmten Zeitintervall die Bestimmung der S-Phasendauer möglich:

Die Versuchstiere erhalten zunächst eine 1. Injektion mit ^{3}H-TdR und nach einem Zeitintervall T_i eine weitere Injektion mit ^{14}C-TdR. Die Tiere werden 30 Minuten nach der ^{14}C-TdR-Injektion getötet. Durch die erste Injektion mit ^{3}H-TdR werden alle diejenigen Zellen markiert, die sich zu diesem Zeitpunkt in der DNS-Synthesephase befinden. Im Zeitintervall T_i zwischen den beiden Injektionen wandert ein Teil dieser Zellen aus der S-Phase in die G_2-Phase weiter, und ebenso viele Zellen treten - unter steady state-Bedingungen - aus der G_1-Phase neu in die DNS-Synthesephase ein. Die ^{14}C-TdR-Injektion führt ebenfalls zur Markierung aller Zellen, die sich zum Zeitpunkt der ^{14}C-TdR-Gabe in der S-Phase befinden, wobei die aus der G_1-Phase in die S-Phase neu eingetretenen Zellen rein ^{14}C-markiert werden. Die von der ^{3}H-TdR-Injektion her mit ^{3}H bereits markierten Kerne, die die S-Phase noch nicht verlassen haben, werden durch die ^{14}C-TdR-Injektion zusätzlich markiert, erhalten also eine Doppelmarkierung. Setzt man eine konstante Häufigkeitsverteilung der Zellen innerhalb aller Phasen des Zellzyklus voraus (steady state-System), so gilt folgende Beziehung:

$$T_s = \frac{T_i \times C}{H} \qquad (10)$$

T_s = Länge der S-Phase
T_i = Zeitintervall zwischen den beiden Injektionen
C = Zahl der ausschließlich ^{14}C-, aber auch (^{14}C + ^{3}H)-markierten Kerne
H = Zahl der ausschließlich ^{3}H-markierten Kerne.

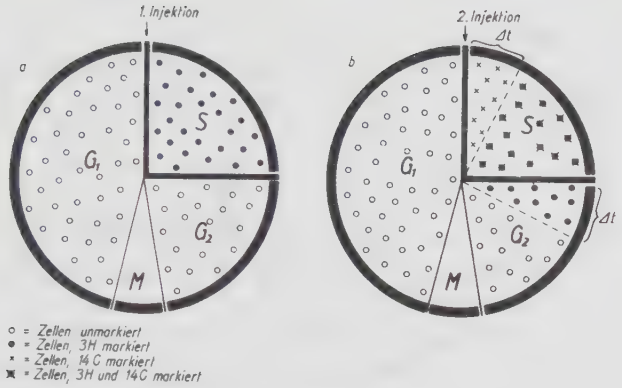

Abb. 12: Doppelmarkierung von Zellen mit ^{3}H- und ^{14}C-Thymidin (aus: AMLACHER, 1974).

Befindet sich eine Zellpopulation nicht im "steady state", sondern im Stadium des exponentiellen Wachstums, dann ist die Häufigkeitsverteilung der Zellen über den Zellzyklus nicht konstant, sondern sie nimmt vom Beginn der G_1-Phase bis zum Ende der Mitose kontinuierlich ab. Damit ist auch die Zahl der Zellen am Anfang der DNS-Synthesephase ("Z" in Abb. 13) größer als ihre Zahl am Ende der S-Phase (s. Abb. 13).

In dem beschriebenen Doppelmarkierungsverfahren sind am Ende nur diejenigen Zellkerne rein ^{3}H-TdR-markiert, die sich zum Zeitpunkt der Injektion bereits fast am Ende der DNS-Synthesephase befunden haben. Zum Zeitpunkt der zweiten ^{14}C-TdR-Injektion haben diese Zellen bereits die S-Phase verlassen und werden daher nicht mehr zusätzlich mit ^{14}C-TdR markiert. Wie aus Abb. 13 zu entnehmen ist, ist die Zahl dieser Zellen beim exponentiellen Wachstum kleiner als unter steady state-Bedingungen.

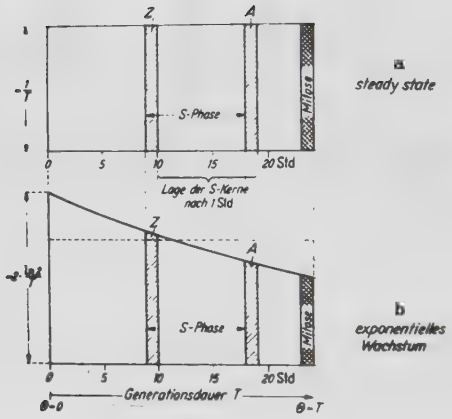

Abb. 13: Häufigkeitsverteilung asynchron proliferierender Zellen Über den Zellzyklus. Bei Doppelmarkierung sind alle Zellen in "A" rein ^{3}H-TdR, in "Z" rein ^{14}C-TdR-markiert (aus: ANDREEFF, 1977).

Mit der zweiten ^{14}C-TdR-Injektion werden a) solche Zellen markiert, die sich zum Zeitpunkt der ersten Injektion am Anfang der S-Phase befanden und diese noch nicht verlassen haben, und b) werden Zellen markiert, die aus der G_1-Phase neu in die DNS-Synthesephase eingetreten sind. Ihre Zahl ist - wie aus Abb. 13 hervorgeht -

bei exponentiellem Wachstum höher als unter steady state-Bedingungen.

Mit einem von LENNARTZ und MAURER (1964, 1968) entwickelten Rechenverfahren ist es möglich, aus den im Doppelmarkierungsverfahren gewonnenen Werten die Dauer von T_s im "steady state" und unter exponentiellen Wachstumsbedingungen in zwei Näherungsschritten zu bestimmen:

1. Näherung:
Zunächst werden die bestehenden Unterschiede in der Häufigkeitsverteilung im exponentiellen Wachstum und im "steady state" vernachlässigt, und die Dauer von T_s wird nach der Formel (10), S. 40, berechnet. Man erhält damit einen unteren Grenzwert für T_s, der der S-Phasendauer bei exponentiellem Wachstum entspricht (vgl. LENNARTZ und MAURER, 1964).

2. Näherung für T_s:
Für die in der 1. Näherung gewonnenen Werte, die für exponentielles Wachstum gelten, können nun Umrechnungsfaktoren auf "steady state" angegeben werden. Man findet aus entsprechenden Figuren wie Abb. 13, daß bei einem Doppelmarkierungsversuch die Zahl der rein ^{3}H-TdR-markierten Zellen mit 1,06 und die Zahl der ^{14}C-TdR-markierten (mit und ohne ^{3}H) mit 0,92 zu multiplizieren ist. Das führt zu einem oberen Grenzwert für T_s, der der S-Phasendauer im "steady state" entspricht.

1.8.2.1.3 Bestimmung der Wachstumsfraktion durch wiederholte ^{3}H-TdR Pulsmarkierungen

Die Bestimmung der Wachstumsfraktion (growth fraction) kann entweder durch ^{3}H-TdR-Dauerinfusion oder durch wiederholte Pulsmarkierungen mit ^{3}H-TdR erfolgen.

Wiederholte Einzelinjektionen führen dann zu einer der ^{3}H-TdR-Dauerinfusion vergleichbaren Markierung, wenn die Abstände zwischen

den einzelnen Injektionen so kurz sind, daß allen DNS-synthetisierenden Zellen zu irgendeinem Zeitpunkt ihrer S-Phase radioaktives Thymidin angeboten wird, d.h. die Zeit T_i zwischen den Injektionen muß kleiner sein als $T_c - T_s$ (HEMPEL, 1968).

Ein Teil der Zellen eines Gewebes bleibt jedoch häufig auch nach langer Versuchszeit unmarkiert. Diese Zellen sind entweder teilungsunfähig und gehören zum Kompartiment N_f, oder sie befinden sich gerade in der G_o-Phase des Zellzyklus.

Die G.F. läßt sich aber auch unter Kenntnis der Zyklusteilphasen (z.B. aus der PLM-Kurve) sowie des Markierungsindex nach folgender Formel berechnen (KISIELESKI et al., 1961):

$$G.F. = \frac{\text{Markierungsindex (L.I.) X Generationszeit } (T_c)}{\text{Länge der S-Phase } (T_s)} \qquad (11)$$

Sollen der Mitoseindex (M.I.) bzw. der Markierungsindex (L.I.) nur auf das proliferative Kompartiment bezogen werden, so müssen sie durch die G.F. korrigiert werden.

1.8.2.1.4 Bestimmung der Generationszeit (T_c)

Die Bestimmung der Generationszeit kann nach drei Verfahren erfolgen:

a) graphische Ermittlung nach einer von LENNARTZ und MAURER (1968) angegebenen Methode. Voraussetzung dabei ist, daß die Dauer von G_2 und von M bekannt ist.

b) rechnerisch nach der Formel

$$T_c = \frac{T_s}{\text{L.I. x } 100} \qquad (12)$$

Bei dieser Berechnung wird eine Wachstumsfraktion von 100 % vor-

ausgesetzt. Teilt sich eine Anzahl der Zellen nicht, erhalten wir einen zu niedrigen Markierungsindex und die berechnete Generationszeit wird länger als in Wirklichkeit.

c) Rechnerisch nach der von KISIELESKI et al. (1961) angegebenen Formel, wonach gilt:

$$T_c = \frac{T_s \text{ x Zahl aller proliferationsfähigen Zellen (G.F.)}}{\text{Zahl der pulsmarkierten Zellen (L.I.)}} \qquad (13)$$

Hierbei müssen der Markierungsindex, T_s und die Wachstumsfraktion bekannt sein.

1.8.2.2 Spät- und Vormarkierung

Das einem Versuchstier injizierte markierte Thymidin steht dem Cytoplasma und den Zellkernen praktisch aller Zellen zur Verfügung (PELC und APPLETON, 1965), so daß alle Zellen, die sich während der Verfügbarkeitszeit in der DNS-Synthese befinden, markiert werden. Schon 1 Minute nach der Injektion wiesen RUBINI et al. (1960) in den Knochenmarkszellen markiertes Thymidin nach und bereits 15 Minuten nach der Injektion war es praktisch in allen Zellen der Maus zu finden. Dabei wird, wie diese Autoren herausfanden, das markierte Thymidin nicht nur sehr schnell in die DNS eingebaut, sondern es verschwindet auch rasch aus der Blutbahn. 90 % der injizierten ^{3}H-Aktivität sind innerhalb der ersten Minuten nach der Injektion aus dem Blut verschwunden. Der Anteil des injizierten markierten Thymidins, der den Körperzellen für die DNS-Synthese zur Verfügung gestellt wird, wird von manchen Autoren unterschiedlich beurteilt. So gehen nach den Untersuchungen von HINRICHS et al. (1964) 8 - 9 %, nach denen von HEMPEL (1966) und von LANG et al. (1964) 20 % des injizierten Thymidins in die DNS-Synthese ein. Der verbleibende Anteil wird in der Leber abgebaut und als ^{3}H-Thymidin und Tritiumwasser ausgeschieden. Wichtig für die Injektion des markierten Thymidin ist die sog. Verfügbarkeitszeit, die - gemessen an der mittleren Silberkornzahl über den Zellkernen der Kryptenepithelien des Dünndarmes - von dem Zeitpunkt der Injektion bis zur Synthese

unlöslicher stabiler DNS vergeht; bei den üblicherweise verabreichten ^{3}H-Thymidinmengen beträgt sie 40 - 60 Minuten (SCHULTZE, 1968).

Je nachdem, zu welchem Zeitpunkt und wie häufig markiertes Thymidin dem Organismus zur Verfügung gestellt wird, sprechen wir von Puls- oder Dauermarkierung. Dabei kann die einmalige Gabe entweder kurz vor dem Tötungszeitpunkt eines (behandelten) Versuchstieres (Spätmarkierung) oder lange Zeit vor dem Tötungszeitpunkt erfolgen (Vormarkierung). Erfolgt die ^{3}H-Thymidingabe eine Stunde vor der Tötung des vorbehandelten Versuchstieres, so werden im Organismus des Tieres nur diejenigen Zellen radioaktiv markiert, die sich zum Zeitpunkt der ^{3}H-Thymidin-Injektion und bis zu 60 Minuten danach in ihrer DNS-Synthesephase befinden.Mit Hilfe des Markierungsindex läßt sich die Thymidineinbaurate einer bestimmten Zellpopulation unter normalen oder Reizbedingungen bestimmen.

Will man nicht nur die DNS-Syntheserate einer Zellpopulation bestimmen, sondern darüber hinaus auch Aussagen über die Herkunft verschiedener Zellen geben, so bedient man sich der Vormarkierung. Dabei erhalten die Versuchstiere Stunden bis Tage vor ihrer Tötung eine einmalige Injektion markierten Thymidins. Ein Teil der angebotenen Menge wird während der S-Phase und der Verfügbarkeitszeit in die DNS der Zellen eingebaut. Danach muß der Markierungsindex im proliferierenden Gewebe bis zu einem gewissen Zeitpunkt ansteigen, da das ^{3}H-Thymidin ständig durch die Mitose an neue Zellen weitergegeben wird. Bei schnell wachsenden Geweben wird dabei das tritiierte Thymidin ständig verdünnt, bis es kaum noch nachweisbar ist.

Für das Phänomen, daß bei der Vormarkierung der ^{3}H-Index stetig weiter ansteigen kann, hat man 2 Faktoren verantwortlich gemacht. Zum einen kann es zur Einwanderung initial markierter Zellen aus anderen Geweben kommen, andererseits besteht die Möglichkeit der Reutilisation bereits früher markierter DNS-Bausteine (FICHTELIUS und DIDERHOLM, 1961 ; RIEKE, 1962; HELPAP, CREMER und GROULS, 1971; HELPAP und CREMER, 1972).

Für die Reutilisation haben STEEL und LAMERTON (1965, zitiert nach CLEAVER, 1967) vier Möglichkeiten angeführt:

1. die DNA abgestorbener Zellen wird durch Zellen innerhalb des gleichen Gewebes eingebaut
2. die DNA abgestorbener Zellen, die bereits zu kleineren Molekülen abgebaut ist, wird innerhalb des gesamten Organismus eingebaut
3. der besondere Fall im Bereich des Gastrointestinaltraktes: Bereits markierte, abgeschilferte Zellen werden bei der weiteren Darm-Passage abgebaut, die markierte DNS wird resorbiert und erneut, z.B. in die Epithelzellen eingebaut. Werden die Zellbestandteile lokal nicht weiter eingebaut, sondern weitergegeben, verläuft der weitere Weg wie unter 2. beschrieben.
4. der besondere Fall des erythrozytären Zellsystems im Knochenmark:
   Wenn sich die orthochromatischen Erythroblasten, die letzten kernhaltigen, zur DNS-Synthese befähigten Vorstufen der Erythrozyten, entkernen, besteht die Möglichkeit einer Weitergabe bereits markierter DNS. Da die orthochromatischen Erythroblasten 20 Stunden vor ihrer Entkernung im Knochenmark verweilen, ist vor dieser Zeit keine Weitergabe möglich (DÖRMER, 1978).

Um eine Wiederverwendung der markierten DNS-Bausteine zu verhindern und damit die Aussagekraft der Vormarkierungsversuche zu verbessern (DUMONT, 1965; FEINENDEGEN, 1967; SCHULTZE, 1968; ROOS, 1970; BÜCHNER, 1971), ist es notwendig, die Reutilisation zu unterbinden. Durch zusätzliche stündliche oder 6stündige Gabe von inaktivem Thymidin im Überschuß kann zumindest die Reutilisation von markierten DNS-Bruchstücken auf niedermolekularer Basis unterdrückt werden (ROBINSON und BRECHER, 1963). Da der höhermolekulare Anteil z.Zt. nicht beeinflußt werden kann, sind sog. autoradiographische Vormarkierungsversuche mit einem gewissen Vorbehalt zu deuten.

1.9 Kompensatorisches und regeneratorisches Nierenwachstum - Ergebnisse anderer Untersuchungen

Die Organe des erwachsenen Organismus lassen sich nach ihrem Wachstumsverhalten einteilen in labile, stabile und permanente Gewebe (BIZZOZERO, 1893, 1894; ALTMANN, 1966).

Zu den labilen Geweben (Wechselgeweben) zählt man solche Organe, die einen hohen Zellumsatz und damit entsprechend viele Mitosen aufweisen, wie z.B. das hämatopoetische System, die Epithelien der Haut und der Schleimhäute.

Zu den stabilen Geweben, bei denen man im Erwachsenenalter nur noch wenige Mitosen findet, gehören die parenchymatösen Organe, wie Niere, Nebenniere, Pankreas und Leber.

Permanente Gewebe sind solche, deren Zellen postpartal rasch ihre Teilungsfähigkeit verlieren. Dazu zählen z.B. Ganglienzellen und Herzmuskelzellen.

Bei der Ratte ist das eigentliche Organwachstum im Alter von 10 - 12 Wochen abgeschlossen. Zu diesem Zeitpunkt findet man in den parenchymatösen Organen (z.B. Leber und Niere) nur noch geringe Zellneubildungsraten, die lediglich dem physiologischen Ersatz untergegangener Zellen dienen. Die niedrige Zellteilungsrate, die die Niere im "steady state" aufweist (1 - 5 Mitosen/ 10 000 Zellen), besagt jedoch nicht, daß eine evtl. erforderliche Zellvermehrung nicht durchgeführt werden kann. Vielmehr werden jede Schädigung des Nierenparechyms und jeder Verlust funktionsfähigen Gewebes (z.B. nach unilateraler Nephrektomie, 2/3 Nephrektomie, Zellschädigung nach Ischämie) mit einer Steigerung der Zellneubildungsrate beantwortet (KLINGE, 1964; NOLTENIUS et al., 1965; ALTMANN, 1966; STÖCKER, 1966; HÜBNER, 1967; HÜBNER und SELAK, 1967; HEINE, STÖCKER und HEINE, 1971; HEINE und STÖCKER, 1971; STÖCKER et al., 1972; HEINE, 1973; MINDERJAHN, 1974). Dabei kann man zwischen kompensatorischem und regeneratorischem Organwachstum unterscheiden:

Unter kompensatorischem Wachstum versteht man das Wachstum des verbleibenden Organs nach Ektomie des anderen Organs bei paarig angelegten Organen, wobei an dem untersuchten Organ selbst kein Schaden gesetzt wurde.

Unter regeneratorischem Wachstum versteht man den Ausgleich eines Zellschadens bzw. Gewebsverlusts, der an dem untersuchten Organ selbst gesetzt wurde.

Dem unbegrenzten kompensatorischen und regeneratorischen Nierenwachstum sind durch den architektonischen Aufbau des Organs Grenzen gesetzt: Breite und Länge des Nephrons sind über ein bestimmtes, sehr begrenztes Maß hinaus schon aus Durchströmungsgründen nicht steigerungsfähig, und eine Vermehrung der Nephrone ist überhaupt nicht möglich. Daraus folgt, daß die kompensatorische Hypertrophie der Restniere nach unilateraler Nephrektomie unvollständig bleibt und nicht 100 %, sondern nur 60 - 70 % des Gesamtgewichts beider Nieren erreicht (ALTMANN, 1966).

1.9.1 Proliferationsumfang und -topik beim kompensatorischen und regeneratorischen Nierenwachstum

In der Niere gibt es keine spezielle Wachstumszone, vielmehr sind sämtliche Zellen des Nephrons grundsätzlich zur Teilung in der Lage, und die Zahl der proliferationsunfähigen Epithelien (N_f) beträgt Null. Welche Zellen nach dem Setzen eines Proliferationsreizes jeweils vom Funktions- (N_G) in den Proliferationszustand (N_c) übergehen, bleibt dabei dem Zufall überlassen (HEINE, 1973).

Nach unilateraler Nephrektomie kommt es in der verbliebenen Niere am 1. postoperativen Tag zu einer Abnahme der Zahl der ^{3}H-Thymidin-markierten Epithelien auf Werte, die deutlich unter denen gesunder Kontrolltiere liegen. Am 2. und 3. postoperativen Tag steigen die Markierungs- und Mitoseindices in sämtlichen Nierenzonen an (HEINE, 1968; NOLTENIUS et al., 1965; ALTMANN, 1966; KLINGE, 1964; HEINE, H.-D., 1971; HÜBNER, 1967). Nach dem Setzen eines Proliferationsreizes vergeht also zunächst eine Latenzzeit

von 24 - 48 Stunden, in der die Zahl ^{3}H-Thymidin-markierter Epithelzellen als Folge eines Eingriffs sogar noch abnehmen kann, d.h. es gehen in dieser Zeit weniger Zellen aus der G_1-Phase in die S-Phase über, bzw. die Zahl der Zellen in der Proliferationsphase (N_c) nimmt ab zugunsten der Zahl der proliferationsfähigen, aber ruhenden Zellen (N_{G_o}), oder aber die Gesamtdauer des Zellzyklus wird sehr lang, wodurch die Höhe des Markierungsindex ebenfalls abnehmen würde (vgl. S. 35 f.).

Im weiteren Verlauf des kompensatorischen Nierenwachstums nehmen die DNS-Neubildungs- und die Mitoserate nicht kontinuierlich zu, sondern sie zeigen einen wellenförmigen Verlauf mit mehreren Maxima und Minima, es liegt ein sog. "rhythmisches Organwachstum" vor (KLINGE, 1964; NOLTENIUS et al., 1965; HÜBNER, 1967; STÖCKER et al., 1972; HEINE W.-D., 1968; HEINE, H.-D., 1971; HEINE, 1973).

HÜBNER (1967) ermittelte für die Tubulusepithelien DNS-Synthesemaxima am 2., 9., 16., 23., 30. und 37. Tag nach Nephrektomie. Bei den Bindegewebszellen liegen die Markierungsmaxima am 2., 4., 9. und 12. postoperativen Tag (HÜBNER und SELAK, 1967). Insgesamt ist die Wachstumsintensität in den ersten Tagen nach dem Setzen des Proliferationsreizes am größten (NOLTENIUS et al., 1965; HÜBNER, 1967; STÖCKER et al., 1972; HEINE, 1973).

Das kompensatorische Nierenwachstum nach Nephrektomie ist nach 20 - 37 Tagen beendet (HÜBNER, 1967).

Kompensatorisches und regeneratorisches Wachstum finden zwar - wie oben erwähnt - in sämtlichen Zonen der Niere statt. Die Wachstumsintensität ist jedoch in den einzelnen Nierenzonen - und damit in den einzelnen Nephronabschnitten - recht unterschiedlich.

Nach unilateraler Nephrektomie und 20tägiger ^{3}H-Thymidin-Dauerinfusion ermittelten STÖCKER et al. (1972) und HEINE (1973) den höchsten ^{3}H-Thymidinmarkierungsindex im Stratum labyrinthicum (Rinde), gefolgt von Stratum subcorticale (Außenstreifen), Zona intermedia (Innenstreifen) und Zona basalis (Innenzone) (Nomenklatur der Nierenzonen nach McFARLANE (1941); in Klammern Nomen-

klatur nach von MÖLLENDORF (1930)).

Die gleiche Reihenfolge fanden STÖCKER et al. (1972) und HEINE (1973) auch beim physiologischen Epithelersatz in der Niere. Zwischen physiologischem Epithelersatz und kompensatorischem Nierenwachstum nach unilateraler Nephrektomie bestehen nach diesen Untersuchungen lediglich quantitative, jedoch keine qualitativen Unterschiede: Das kompensatorische Nierenwachstum nach Nephrektomie bedeutet also eine Steigerung des physiologischen Zellersatzes. Nach einstündiger Ischämie ist dagegen das regeneratorische Wachstum in der nicht unterbundenen Niere im Str. subcorticale am ausgeprägtesten, dann folgen Zona intermedia, Str. labyrinthicum und Zona basalis. Die Reihenfolge der Wachstumszonen hat sich also verschoben: Die am stärksten geschädigten Nierenschichten zeigen das stärkste regeneratorische Wachstum.

1.9.2 Die Dauer von Zellzyklusphasen in der Niere

HEINE (1968) ermittelte mit Hilfe des Prozent-markierten-Mitosen-(PML)Verfahrens an der Niere im steady state, also nach Beendigung des eigentlichen Organwachstums, als mittlere Dauer von G_2 = 4,8 Stunden, von M = 2 Stunden und von S = 15,8 Stunden. Die Dauer von $(S + G_2 + M)_{max}$ beträgt 24 Stunden. Diese Teilphasen des Generationszyklus dauern etwa doppelt so lang wie in rasch proliferierenden Geweben. Diese Form des Proliferationsmodus wurde daher von STÖCKER (1966) als "langsamer Proliferationsmodus" bezeichnet und vom "schnellen Proliferationsmodus", z.B. bei den Kryptenepithelien des Dünndarms, abgegrenzt. Da an der fetalen Niere ein schneller Proliferationsmodus vorliegt, wobei G_2 ca. 1,7 Stunden und die S-Phase 5,8 Stunden dauern (WEGENER, HOLLWEG und MAURER, 1964), muß während der postpartalen Entwicklung in der Niere der Ratte eine Umschaltung auf den langsamen Proliferationsmdous erfolgen. Dieses Zeitintervall wurde zwischen den 30. und 120. Lebenstag lokalisiert (STÖCKER, 1966).

HEINE und STÖCKER (1972) ermittelten die Dauer von Zellzyklusteilphasen der Tubulusepithelien beim kompensatorischen Nierenwachs-

tum nach unilateraler Nephrektomie mittels des Prozent-markierte-Mitosen-Verfahrens. Sie führten die Bestimmung in den ersten 72 Stunden nach Nephrektomie durch. Die einzelnen Nierenzonen wurden nicht getrennt ausgewertet. Sie bestimmten eine S-Phasendauer von 15 Stunden, G_2 dauerte 3 Stunden, und die durchschnittliche Mitosezeit betrug 1,9 Stunden. Die Zeitdauer der Zellzyklusphasen war somit gegenüber denen von Nieren im steady state nicht verändert. Auch nach unilateraler Nephrektomie ermittelten HEINE und STÖCKER (1972) also einen langsamen Proliferationsmodus.

HEINE und STÖCKER (1971) bestimmten mit dem PLM-Verfahren die Dauer von Zellzyklusphasen nach 2/3-Nephrektomie. Die Bestimmung erfolgte in den ersten 72 Stunden postoperativ und wurde getrennt für Rinde und Mark durchgeführt. Für die Tubulusepithelien der Rinde ergaben sich dabei folgende Werte: S = 9 Stunden, G_{2min} = 1,5 Stunden, M = 1 Stunde. Für die Tubulusepithelien des Marks bestimmten sie: S = 8,6 Stunden, G_{2min} = 2,0 Stunden, M = 1 Stunde. Zwischen Rinde und Mark bestehen also keine wesentlichen Unterschiede in der Länge der Zyklusphasen. Im Vergleich zu den Nieren nach unilateraler Nephrektomie fällt eine deutliche Verkürzung der Zellzyklusphasen auf: Der Zellzyklus läuft jetzt doppelt so schnell ab wie im steady state.

Die gleiche Dauer für die Zellzyklusphasen ermittelte HEINE (1968) auch für die kompensatorisch regenerierende Niere nach 1stündiger Ischämie des kontralateralen Organs. Eine Umschaltung auf einen schnellen Proliferationsmodus, wie er in der fötalen Niere und während der ersten postpartalen Wachstumsperiode besteht, ist also auch nach Beendigung des physiologischen Nierenwachstums noch möglich . Allerdings muß dazu offensichtlich die Schädigung der Niere ein bestimmtes Ausmaß erreichen.

Beim kompensatorischen Wachstum der Restniere nach unilateraler Nephrektomie spielen im übrigen endomitotische Polyploidisierungen und Amitosen keine Rolle. Vielmehr führt jede Zelle unmittelbar im Anschluß an eine DNS-Synthese auch eine Kernteilung durch.

In der Niere existiert auch keine G_2-Population im Sinne Gelfant's (1962-1966, zit. nach HEINE, 1973), also eine Population von Zellen, die nach der S-Phase in die G_2-Phase eintreten und beliebig lange in ihr verharren. So fand HEINE (1968) bei der Durchführung eines %-markierte-Mitosen-Versuchs 100 % der Kernteilungsfiguren markiert, was bei Anwesenheit von Mitosen aus einer sehr langen G_2-Population nicht möglich wäre. Zum zweiten konnten bei Versuchstieren, die eine kontinuierliche intravenöse ^{3}H-Thymidindauerinfusion über 10 Tage erhielten, niemals unmarkierte Mitosen gefunden werden; d.h. also, daß jeder beobachteten Mitose eine S-Phase vorausgegangen sein muß.

1.10 Ziel der eigenen Arbeit

Unter Berücksichtigung der bisher bekannten Ergebnisse über Lymphstase und kompensatorisches Nierenwachstum sollen in der vorliegenden Arbeit folgende Fragen geklärt werden:

1. Wie sieht der ^{3}H-Thymidineinbau in Tubulusepithelien und Interstitialzellen der einzelnen Nierenzonen nach kontralateraler Nephrektomie aus?
2. Wie stellt sich der ^{3}H-Thymidineinbau in Tubulusepithelien und Interstitialzellen der einzelnen Nierenzonen nach unilateraler Nephrektomie und gleichzeitiger Blockade des Ductus thoracicus dar?
3. Hat die Lymphstase einen Einfluß auf kompensatorisches Wachstum nach Nephrektomie? - Gibt es einen Unterschied zwischen dem akuten und dem chronischen Stadium einer Lymphstase?
4. Wie hoch ist die Wachstumsfraktion in der Restniere von Ratten nach Nephrektomie und bei nephrektomierten Ratten mit gleichzeitiger Blockade des Ductus thoracicus?
5. Wie lange dauert die S-Phase und wie lang sind die (G_2 + M)-Phase und die G_1-Phase bei nephrektomierten Ratten mit und ohne Blockade des Ductus thoracicus?
6. Wie lang ist die Zellzyklusdauer bei Ratten nach unilateraler Nephrektomie mit und ohne gleichzeitige Blockade des Ductus thoracicus?
7. Ist ein eventuell vorhandener Unterschied in der Höhe der Markierungsindices zwischen den beiden Versuchsgruppen auf einen Unterschied in der Höhe der Wachstumsfraktion oder eine unterschiedliche Dauer von Teilphasen des Generationszyklus oder eine unterschiedliche Zellzyklusdauer zurückzuführen?

2. Material und Methoden

2.1 Tiermaterial

Für unsere Versuche standen uns insgesamt 150 männliche und weibliche Albinoratten (KG 200 - 400 g) zur Verfügung. Die Tiere stammten überwiegend aus der Zucht der Fa. Ivanovas, Isny, Allgäu, z.T. auch aus der eigenen Zucht. Alle Tiere erhielten das "Mischfutter für Versuchsratten" (Hoeveler Kraftfutterwerke, Langenfeld-Immigrath) sowie Wasser ad libitum. 24 Stunden vor der Tötung wurde jegliche Nahrung entzogen.

Alle Tiere wurden bei konstanter Raumtemperatur (23 $\pm$ 1° C), bei konstanter Luftfeuchtigkeit (60 $\pm$ 5 %), 12stündigem Hell-Dunkelrhythmus und regelmäßiger Luftumwälzung (4 - 6 mal pro Stunde) in den üblichen Kunststoffkäfigen in Gruppen zu 2 - 3 Tieren gehalten. Die Tiere kamen - soweit nicht anders beschrieben - im Alter von 12-15 Wochen als jung-erwachsene Tiere in den Versuch.

2.1.1 ^{3}H-TdR-Einbau in die Rattenniere nach unilateraler Nephrektomie

Für diese Untersuchungen standen uns insgesamt 60 männliche und weibliche Albinoratten zur Verfügung. Bei sämtlichen Tieren wurde eine unilaterale Nephrektomie durchgeführt. Die Überlebenszeit der Tiere nach der Nephrektomie betrug 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 30, 60, 90, 180, 270, 360 Tage. Jeder Versuchstag war mit 3 Tieren besetzt. Alle Tiere erhielten 1 Stunde vor der Tötung eine einmalige intraperitoneale Injektion von radioaktiv markiertem ^{3}H-Thymidin (1,0 - 1,5 µCi/g KG, NET-027X, spez. Aktivität 20 Ci/mMol; NEN Chemicals, Boston, Mass., USA). Die Tötung der Tiere erfolgte durch Dekapitation im leichten Ätherrausch.

2.1.2 ^{3}H-TdR Einbau in die Rattenniere nach unilateraler Nephrektomie und Ductus thoracicus - Blockade

Für diese Versuche standen uns ebenfalls 60 männliche und weibliche Albinoratten zur Verfügung. Die Versuchsanordnung ist identisch mit der in 2.1.1 beschriebenen, nur wurde gleichzeitig mit der Nephrektomie eine Ductus thoracicus - Blockade durchgeführt (s. 2.2.2).

2.1.3 Gesunde Kontrolltiere

Als Kontrolltiere standen uns 6 Tiere in 2 Gruppen zur Verfügung (Gruppe I: 12 - 15 Wochen alte Tiere; Gruppe II: 12 Monate alte Tiere). Bei diesen Tieren wurde keine Operation durchgeführt. Die Gabe von ^{3}H-TdR und die Tötung erfolgten wie unter 2.1.1 beschrieben.

2.1.4 Bestimmung der Wachstumsfraktion bei Ratten nach Nephrektomie und Nephrektomie mit gleichzeitiger Ductus thoracicus - Blockade

Für diese Versuche standen uns insgesamt 18 Tiere in 2 Versuchsgruppen zur Verfügung. Alle Tiere wurden unilateral nephrektomiert. Bei 9 Tieren wurde zusätzlich der Ductus thoracicus thermokoaguliert. Zur Bestimmung der Wachstumsfraktion (G.F.) erhielten sämtliche Tiere am 4. Tag nach Nephrektomie bzw. Nephrektomie und Ductus thoracicus-Blockade alle 6 Stunden eine intraperitoneale ^{3}H-TdR-Injektion (0,025 mCi). Je 6 nephrektomierte Ratten (jeweils 3 Tiere mit und 3 Tiere ohne gleichzeitige Ductus thoracicus-Blockade) wurden 24, 48 und 72 Stunden nach der ersten ^{3}H-TdR-Injektion getötet.

2.1.5 Doppelmarkierung mit ^{3}H-TdR und ^{14}C-TdR zur Bestimmung der S-Phasendauer bei Ratten nach Nephrektomie mit und ohne gleichzeitige Blockade des Ductus thoracicus

Für diesen Versuch standen ebenfalls 6 Tiere zur Verfügung. Bei allen Tieren wurde eine unilaterale Nephrektomie durchgeführt. Bei 3 Tieren erfolgte gleichzeitig eine Thermokoagulation des Ductus thoracicus vor seinem Eintritt in den linken Venenwinkel. Am 4. postoperativen Tag erhielten alle Tiere eine einmalige intraperitoneale Injektion von ^{3}H-TdR (0,1 mCi) und ca. 80 Minuten später eine zweite intraperitoneale Injektion mit ^{14}C-TdR (0,01 mCi). Die Tötung der Tiere erfolgte 1 Stunde nach der zweiten Injektion.

2.2 Chirurgische Methoden

2.2.1 Nephrektomie

Bei allen Versuchstieren wurde durch einen Pararektalschnitt die Bauchhöhle eröffnet, die linke Niere dargestellt und hervorluxiert. Die Nierenkapsel wurde gespalten und abpräpariert. Nach Abklemmung und doppelter Ligatur von Ureter und Gefäßen am Nierenstiel wurde die Niere abgesetzt. Es folgte ein schichtweiser Wundverschluß.

2.2.2 Ductus thoracicus - Blockade

Bei 75 Versuchstieren wurde gleichzeitig mit der Nephrektomie der Ductus thoracicus vor seinem Eintritt in den linken Venenwinkel in einer Modifikation der von SALDEEN und LINDNER (1960) sowie AZARGOSCHASB (1963) angegebenen Methode mittels Thermokoagulation verschlossen. Zur besseren Darstellung des Ductus thoracicus erhielten die Tiere 1 Stunde prä operationem 2 - 4 ml Olivenöl über eine Magensonde verabreicht.

Das Manubrium sterni wurde zunächst bis zum Angulus in der Mit-

tellinie gespalten. Der linke Anteil des Manubrium wurde zur Seite gezogen und anschließend der linksseitige M. sternohyoideus scharf abgetrennt. Nach diesem Vorgehen stellt sich der weiß durchscheinende Ductus thoracicus mit seinen büschelförmigen Endausläufern dar. Die Operationen wurden jeweils vormittags zwischen 9 und 12 Uhr in Äthernarkose durchgeführt.

2.3 Histologische Methoden

Die frisch entnommenen Nieren wurden sofort fixiert und in 4 %igem neutral gepufferten Formalin (pH 6,8 - 7,0) unter Zusatz von 100 mg/l 2-Desoxythymidin bei 4^{o} C im Eisschrank für mindestens 24 Stunden fixiert. Nach 24-stündiger Wässerung wurden die Gewebsproben über 2 Wochen in einer aufsteigenden Alkoholreihe (50 %, 50 %, 70 %, 70 %, 96 %, 96 %, 100 %, 100 %) bei Raumtemperatur schonend entwässert. Vor dem Überführen in Xylol I und Xylol II stellten wir die Präparate für etwa 24 Stunden in Salicylsäuremethylester I und II.

Nach dem Einbetten in Paraplast wurden histologische Präparate von 2 μ Schnittdicke angefertigt. Im Anschluß an die Entparaffinierung in Xylol wurden die Schnitte über eine absteigende Alkoholreihe in destilliertes Wasser gebracht. Anschließend wurden die Schnitte mittels der PAS-Reaktion nach HOTCHKISS und Mc MANNUS (in der Modifikation nach GEDIGK) angefärbt, jedoch ohne Kernfärbung.

Die für die Autoradiographie bestimmten Schnitte wurden getrocknet und anschließend zur besseren Haftung des Films mit Chromalaun-Gelatine-Lösung benetzt (0,5 g Gelatine, 0,05 g Chromalaun, 100 ml aqua dest.). Nach erneutem Trocknen der Präparate erfolgte die Beschichtung mit Stripping AR-10 Filmen (Kodak) in der Dunkelkammer bei Rotlicht (Kodak - Wratten-Filter Nr. 1). Anschließend wurden die Präparate zusammen mit $CaCl_2$ als hygroskopischem Agens in lichtdichten Kästen aufbewahrt. Die Expositionszeit betrug 28 Tage. Photographisch entwickelt wurden die Präparate nach folgendem Verfahren:

a) Einlegen in Entwicklerlösung bei 20° C

Entwicklerlösung:

Menthol	1,1 g
Natriumsulfid	36,0 g
Hydrochinon	4,4 g
Natriumkarbonat (wasserfrei)	24,0 g
Kaliumbromid	2,0 g
aqua dest.	ad 500 ml

b) Abspülen in 1 %iger Essigsäurelösung für 1 Minute

c) Fixation in saurem Fixierbad (Agfa) 25 Minuten

d) Wässerung fließend für 40 Minuten

e) Trocknen der Autoradiogramme für 24 Stunden in staubfreiem Raum bei Zimmertemperatur

Als letztes folgte die Kernfärbung der Autoradiogramme mit Hämatoxylin nach MAYER.

2.4 Auswertung der Autoradiogramme

Die quantitative Auswertung der Autoradiogramme erfolgte mit einem Mikroskop der Fa. Leitz (Leitz, Labor-Lux) bei 1000facher Vergrößerung (Ölimmersion) mit einem Zählokular (Strichplatte mit Netzeinteilung).

2.4.1 Bestimmung des Markierungsindex (L.I.) bei Ratten nach kontralateraler Nephrektomie ohne und mit gleichzeitiger Blokkade des Ductus thoracicus

Bei den Versuchstieren der Gruppen 2.1.1 und 2.1.2 wurden bestimmt:

1. Der Markierungsindex der Tubulusepithelien und Bindegewebszellen im Bereich von perivasalen Räumen mit einem Radius von max. 300 μ in folgenden Nierenschichten:
   - Rinde
   - Außenstreifen
   - Innenstreifen
2. Der Markierungsindex für Tubulusepithelien und Bindegewebszel-

len im Zwischenbereich zweier perivasaler Räume. Der zu zählende Bereich sollte gefäßfrei sein und mindestens 300 μ von perivasalen Räumen entfernt sein. Dabei wurden folgende Nierenschichten erfaßt:

- Rinde
- Außenstreifen
- Innenstreifen

3. Der Markierungsindex für Tubulusepithelien und Bindegewebszellen im Bereich der Innenzone.

Gezählt wurden jeweils 1000 Zellen im perivasalen Raum bzw. im Zwischenbereich zweier perivasaler Räume (Ausnahme: Innenzone). In Anlehnung an Berechnungen von KRIZ (1967), der das Flächenverhältnis der einzelnen Nierenabschnitte zueinander bei orthogonalen histologischen Schnitten ermittelte (R : AS : IS : IZ = 1 : 0,43 : 0,8 : 2,5), wurde an insgesamt

- 8 verschiedenen Stellen in der Rinde
- 4 verschiedenen Stellen im Außenstreifen
- 8 verschiedenen Stellen im Innenstreifen
- 16 verschiedenen Stellen in der Innenzone

gezählt.

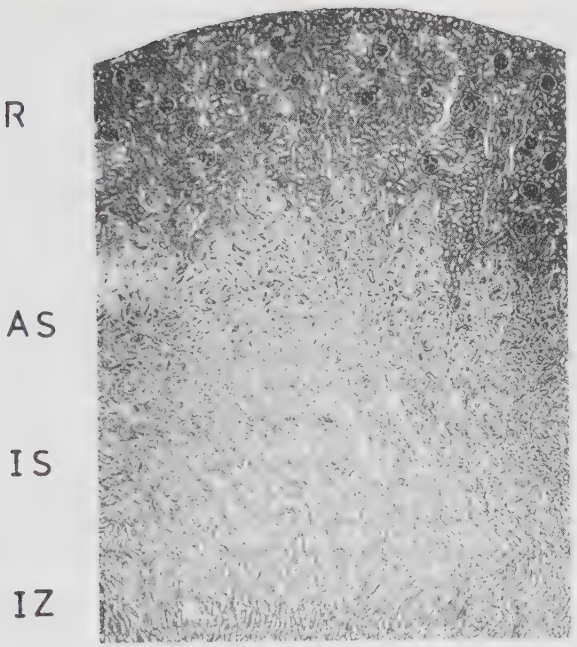

Abb. 14: Längsschnitt durch die Niere, Übersichtsbild;
2. Tag nach unilateraler Nephrektomie.
R = Rinde
AS = Außenstreifen (mit PAS-positivem Bürstensaum)
IS = Innenstreifen
IZ = Innenzone
(PAS, 30 x)

2.4.2 Bestimmung der Wachstumsfraktion (G.F.)

Bei den Versuchstieren der Gruppe 2.4.1 bestimmten wir den Markierungsindex (L.I.) der Tubulusepithelien und Bindegewebszellen in Rinde, Außenstreifen und Innenstreifen. In jeder Zone wurden insgesamt 1000 Zellen ausgezählt. Auf eine getrennte Ermittlung des L.I. bei gefäßnahen und gefäßfernen Zellen wurde ver-

zichtet.

Die theoretische Höhe der Wachstumsfraktion errechneten wir mit Hilfe der Formel von KISIELESKI et al. (1961), nachdem wir den Markierungsindex (L.I.), die Generationszeit (T_c) und die Dauer der S-Phase (T_s) bestimmt hatten.

2.4.3 Bestimmung der S-Phasendauer (Doppelmarkierungsversuch mit ^{3}H-TdR und ^{14}C-TdR)

Hierzu dienten die Autoradiogramme der Versuchsgruppe 2.1.5. Wir ermittelten in jeder Nierenzone (Rinde, Außenstreifen, Innenstreifen) die Gesamtzahl der ausschließlich ^{3}H-TdR-markierten Tubulus- und Bindegewebszellen und die Gesamtzahl der rein ^{14}C-TdR- sowie mit ^{3}H-TdR und ^{14}C-TdR doppelt markierten Zellen.

Aus diesen Meßwerten berechneten wir die S-Phasendauer (T_s) für Bindegewebs- und Tubuluszellen nach der von LENNARTZ und MAURER (1964; 1968) angegebenen Methode in 2 Näherungsschritten:

Die erste Näherung, die einen unteren Grenzwert für T_s liefert, erfolgte nach der Formel:

$$T_s = \frac{T_i \times C}{H} \qquad \text{(vgl. Formel 10)}$$

Unter Einführung von Korrekturfaktoren ermittelten wir mit der 2. Näherung einen oberen Grenzwert für T_s:

$$T_s = \frac{T_i \times (C \times 1{,}06)}{(H \times 0{,}92)}$$

T_i = Zeitdauer zwischen der ^{3}H-TdR- und der ^{14}C-TdR-Injektion
H = Anzahl der ausschließlich ^{3}H-TdR-markierten Zellen
C = Anzahl der ^{3}H-TdR- und ^{14}C-TdR- bzw. nur ^{14}C-TdR-markierten Zellen

2.4.4 Bestimmung der Gesamtzellzyklusdauer (T_c)

Die Gesamtzellzyklusdauer berechneten wir nach der von KISIELESKI et al. (1961) angegebenen Formel (vgl. S. 45):

$$T_c = \frac{T_s \times N_c/N_t}{\text{Zahl der markierten Zellen}}$$

Durch Einsetzen des unteren und oberen Grenzwertes für T_s erhalten wir ebenfalls einen unteren Grenzwert für T_c, der der Zellzyklusdauer in exponentiell wachsenden Geweben entspricht, und einen oberen Grenzwert, der der Zellzyklusdauer im steady state entspricht.

Für N_c/N_t setzten wir den Wert der Wachstumsfraktion (G.F.) ein, den wir durch wiederholte Pulsmarkierungen nach 72stündiger Versuchsdauer ermittelt hatten.

2.4.5 Bestimmung der Zeitdauer für $(G_2 + M)_{min}$

Die Dauer von $(G_2 + M)_{min}$ bestimmten wir durch Aufsuchen markierter Mitosen von Tubulusepithelien und Bindegewebszellen in den Doppelmarkierungsautoradiogrammen der Versuchsgruppe 2.1.5.

2.4.6 Bestimmung von Zeitdauer für G_1

Wir berechneten G_1 nach der Formel

$$T_{G_1} = T_c - (T_s + (T_{G_2} + T_M)_{min})$$

nachdem wir alle anderen Teilphasen des Generationszyklus rechnerisch oder experimentell bestimmt hatten.

3. Kritik der Methoden

3.1 Versuchstiere

Die Ratte wird in der Literatur relativ selten als Versuchstier bei der Beantwortung lymphostatischer Fragestellungen verwendet - vermutlich wegen der kleinen Operationsfelder bei diesem Tier. Andererseits bietet die Ratte aufgrund ihrer problemlosen Haltung, ihrer raschen Vermehrung, der Preiswürdigkeit sowie der nicht erforderlichen Asepsis die ideale Voraussetzung für große experimentelle Serien, welche zur Beantwortung quantitativer Fragen notwendig sind. Mit der Thermokoagulation des Ductus thoracicus vor seiner Einmündung in den linken Venenwinkel haben wir ein Verfahren entwickelt, welches sich rasch und schonend durchführen läßt und mit einer vernachlässigbaren Mortalität bei den von Natur aus sehr robusten Versuchstieren behaftet ist.

3.2 Chirurgische Methoden

Wie erwähnt, erfolgte die Thermokoagulation des Ductus thoracicus (auf einer Strecke von 2 - 3 mm) unter Sicht des Auges. Der Operationserfolg war somit unmittelbar zu kontrollieren (Prallfüllung des distalen Milchbrustganges, insbesondere nach Massage des Abdomens; fehlender Lymphabfluß im Randstrom der Vena subclavia). Bei denjenigen Tieren, welche am ersten bis fünften postoperativen Versuchstag getötet wurden, erlaubte darüberhinaus das Ergebnis einer Obduktion eine Aussage über die Effizienz der Thermokoagulation des Ductus thoracicus. Bei den länger überlebenden Tieren haben wir durch zahlreiche weitere Parameter (tägliche postoperative Kontrolle des Körpergewichtes, Kontrolle der Lymphozyten im peripheren Blut) den operativen Erfolg gesichert. Wie bereits auf S. 11 und 12 dargelegt, läßt sich im wesentlichen aus vier Gründen eine totale Lymphabflußblockade nicht immer erreichen:

1. die große Variationsbreite des Ductus thoracicus in seinem Verlauf und seiner Einmündung

2. die Kollaterallymphbahnen zwischen inguinalen und axillären Lymphknoten (Ductus thoracicus lateralis dexter sive sinister)
3. die intra- und extraparenchymatösen lymphatico-venösen Anastomosen
4. die große Regenerationsfähigkeit des Lymphgefäßsystems

Außerdem kann eine vollständige Lymphabflußblockade durch einen unbemerkten Einriß eines Nebenastes des Ductus thoracicus mit Ausbildung eines Chylo-Mediastinums oder Chylo-Thorax verhindert werden.

3.3 Histologische Methoden

Vom Tod des Individuums bis zur Erstellung eines histologischen Präparats unterliegt eine Gewebsprobe mannigfaltigen Einflüssen, die in Abhängigkeit von der gewählten Konservierungsmethode mehr oder weniger zu einer Gewebsschrumpfung führen.

a) Einfluß der Fixierung auf die Meßergebnisse

Der scheinbar so einfache Prozeß der Fixierung stellt in Wirklichkeit einen sehr komplexen Vorgang dar, dessen Wesen bis jetzt nur zu einem kleinen Teil geklärt ist.

Die Fixierung ist gewöhnlich mit einer Volumenänderung verknüpft, die sich sowohl an den einzelnen Bauelementen als auch an der Gesamtgröße und der Gestalt des Präparates bemerkbar macht. Zumeist kommt es zu einer Schrumpfung, nur in wenigen Fällen zu einer Quellung. Das Ausmaß der Veränderung ist je nach Organ, dessen chemisch-physikalischem Zustand und je nach Fixierungsflüssigkeit verschieden groß.

b) Einfluß der Dehydrierung auf die Meßergebnisse

Die Notwendigkeit, die fixierten Gewebsproben zum Zwecke der besseren Schneidbarkeit in Paraplast einbetten zu müssen, macht deren Entwässerung notwendig. Diese erfolgt über die sogenannte

aufsteigende Alkoholreihe. Da 30 % der lebenden Substanz aber aus Wasser besteht, hat diese Nachbehandlung in allen Fällen eine weitere Schrumpfung der Präparate zur Folge, die bis zu 10 % der ursprünglichen Größe betragen kann. Sie ist auch dann nicht zu vermeiden, wenn die Konzentrationserhöhung des Alkohols tropfenweise erfolgt. Eine gewisse Ausnahme bildet dabei die Einfriermethodik, mit welcher z.B. KRIZ et al. (1970) ein dem tatsächlichen Funktionszustand der Niere ähnlicheres histologisches Präparat angefertigt haben als es durch die gängigere Methode der Entwässerung möglich war.

c) Einfluß der Paraplast-Einbettung auf die Meßergebnisse

Nach sorgfältiger Entwässerung und anschließender Entfernung des absoluten Alkohols mittels Xylol aus den Präparaten können diese in flüssiges Paraplast eingebettet werden. Dies geschieht bei einer Temperatur von 56 - 58° C. Hierbei muß besonders auf die strikte Einhaltung dieser Temperatur geachtet werden, da der Schmelzpunkt des Paraplastes nahe dem Koagulationspunkt des Eiweißes liegt (60° C) und bei Überschreiten dieser Temperatur eine weitere Schrumpfung der eiweißhaltigen Strukturen im Präparat hervorgerufen werden.

3.4 Autoradiographische Methoden

Bei der Auswertung von Autoradiogrammen können einige Effekte die Ergebnisse verfälschen, die die Aussagen über die Zellneubildungsrate, gemessen an den DNS-Markierungsindices, in Frage stellen können.

a) Es besteht die Möglichkeit eines cytotoxischen Strahleneffekts auf die Proliferationsphase. Dabei sollen insbesondere eine Verminderung der DNS-Syntheserate und ein Abfall der Mitosen eintreten (POST und HOFFMANN, 1964). In der Regel werden solche Effekte in meßbarer und damit ergebnisverfälschender Form nur bei sehr hohen Aktivitätsdosen wirksam, wie sie in unserer Versuchsanordnung nicht gegeben wurden. Eine Beeinträchtigung

des Markierungsindex durch die Applikation von H^3-Thymidin ist demnach nicht wahrscheinlich.

b) ^{3}H-Thymidin-markierte Kerne, die nicht in der Proliferationsphase stehen, können eine sog. "metabolische DNS" synthetisieren. Der ^{3}H-TdR-Markierungsindex kann in einem solchen Fall kein Maß für eine Zellneubildung sein. Wenngleich über eine solche "metabolische DNS" immer wieder berichtet wurde (PELC, 1968 a; b; APPLETON et al., 1969), so ist durch Untersuchungen von SCHULTZE et al. (1972) und MAURER et al. (1972) die Existenzeiner derartigen "metabolischen DNS", welche unabhängig vom Zellteilungszyklus gebildet wird, weitgehend unwahrscheinlich geworden.

c) Bereits markierte DNS-Bausteine können nach Absterben einer Zelle durch Reutilisation an andere Zellen weitergegeben werden. Dies wäre allerdings nur dann möglich, wenn die Tiere nach der Thymidingabe wenigstens 20 Stunden leben würden. Diese Zeit benötigen die orthochromatischen Erythroblasten, um das aufgenommene ^{3}H-TdR bei ihrer Entkernung weiterzugeben. Da bei unseren Versuchen die Tiere spätestens nach zwei Stunden getötet wurden, kann die Reutilisation nicht zur Verfälschung der Ergebnisse beigetragen haben.

d) Bei sehr hohen Gaben von Thymidin wird die Aktivität der Thymidinkinase gehemmt. Hierdurch kann es zu einer Veränderung des Thymidineinbaus in die DNS kommen. Diese Hemmung tritt allerdings erst bei einer Konzentration von 10^{-5} Mol Thymidin/Zellkern ein (SCHULTZE, 1968). Im Rahmen unserer Versuche behält die Thymidinkinase ihre Aktivität.

e) Eine Vortäuschung falsch positiver Ergebnisse ist durch den sog. Nulleffekt möglich. Darunter verstehen wir Schwärzungen des Films durch kosmische Strahlung und andere Umwelteinflüsse. Erst bei niedrig gehaltener Expositionszeit sowie bei Silberkornzählungen gewinnt der Nulleffekt an Bedeutung. Dies ist bei unserer Expositionszeit von 28 Tagen nicht der Fall.

Die Doppelmarkierung der DNS mit ^{3}H-TdR und ^{14}C-TdR erfordert an sich die Anwendung der Doppelschichtautoradiographie (ANDREEFF, 1977), um eine genaue Unterscheidung treffen zu können zwischen rein ^{3}H-TdR-markierten Zellen und solchen, die nur ^{14}C-TdR-markiert sind oder eine Doppelmarkierung mit ^{3}H-TdR und ^{14}C-TdR aufweisen. Wir haben aus technischen Gründen die Stripping-Film-Technik angewandt. Zellkerne wurden nur dann als ^{14}C-markiert angesehen, wenn die Markierung weit über den Zellkern hinaus reichte (1/2 - 1 Kernbreite), und wenn außerdem beim Fokussieren die Silberkörner in verschiedenen Bildebenen anzutreffen waren.

Eine reine ^{3}H-TdR-Markierung wurde dann angenommen, wenn die Silberkörner auf den Zellkern begrenzt waren und nicht in die Umgebung ausstrahlten und wenn sich beim Fokussieren alle Silberkörner in einer Bildebene befanden.

Markierte Zellen, die sich auf die Weise nicht eindeutig zuordnen ließen, wurden nicht mitgezählt. Alle Präparate wurden mehrfach ausgezählt, bis die Ergebnisse mehrerer Untersuchungen in etwa übereinstimmten.

3.5 Zähl- und Meßmethoden

Die meisten Zähl- und Meßverfahren unter dem Mikroskop sind als statistische Methoden aufzufassen. Die einzelne Messung oder Zählung ist von geringem Aussagewert und nur der Mittelwert und die Streuung einer größeren Zahl von Bestimmungen an einer einwandfrei erhobenen Stichprobe liefern auswertbare Resultate.

Die Idealsituation einer orthogonal geschnittenen Niere war nicht immer gegeben, so daß die einzelnen Nierenabschnitte nicht den von KRIZ (1967) errechneten Verhältnissen entsprach. Schwierigkeiten bereiteten hierbei insbesondere das Festsetzen der durch die Versuchsanordnung vorgeschriebenen Anzahl von Zählstellen im jeweiligen Nierenabschnitt. Dies zeigte sich besonders ausgeprägt im Nierenabschnitt mit dem kleinsten Durchmesser, dem Außenstreifen.

Auch ein qualitativ guter Schnitt zeigte nicht immer die ausreichende Anzahl von angeschnittenen perivasalen Räumen. Insgesamt war das Einhalten der Entfernung von 300 μ nicht eine Frage der Genauigkeit, sondern eine Frage einer ausreichenden Anzahl von gut gewählten Zählstellen.

Bei der Aufteilung in einen gefäßnahen und einen gefäßfernen Bereich bei zweidimensionalen Schnitten konnte die dritte Dimension nicht erfaßt werden. So ist nicht auszuschließen, daß manche im vermeintlich gefäßfernen Bereich gewählten Zählstellen unter Berücksichtigung des dreidimensionalen Organs zu nahe an perivasalen Räumen unter- oder oberhalb der Schnittebene liegen können.

Die Gefahr von qualitativ unbefriedigenden Präparaten konnte durch eine entsprechende Anzahl von Präparaten des gleichen Organs aufgehoben werden.

4. Beschreibung der Ergebnisse

4.1 Markierungsindices der Tubulusepithelien in der Rattenniere nach kontralateraler Nephrektomie

4.1.1 Befunde in der Nierenrinde

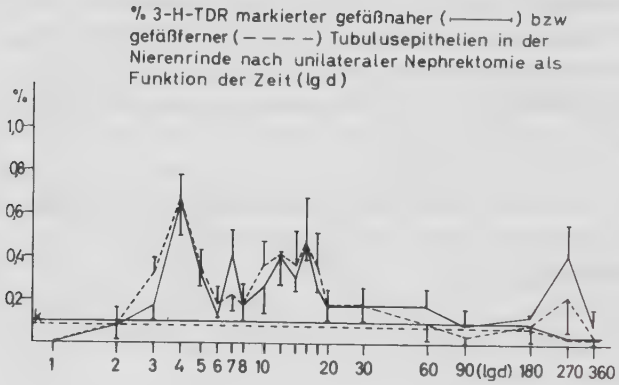

Abb. 15

Die Kurve der Markierungsindices gefäßferner und gefäßnaher Tubulusepithelien durchläuft am 1. postoperativen Versuchstag ein Minimum. Am 2. und 3. Tag folgt ein Anstieg zu einem ersten Maximum am 4. postoperativen Tag, das bei den gefäßnahen und gefäßfernen Tubulusepithelien 3mal höhere Werte als bei den Kontrolltieren erreicht. Dem steilen Abfall der Markierungsindices am 5. und 6. Tag folgen neue Maxima am 7. und 12.-16. Versuchstag, die jedoch nicht mehr die Höhe der Werte am 4. Tag erreichen. Vom 20. bis zum 180. Versuchstag liegen die Markierungsindices der Tubulusepithelien im Bereich der Kontrollen. Am 270. Tag steigen sie jedoch noch einmal an und liegen jetzt gefäßnah ca. 10mal und gefäßfern ca. 5mal über den Markierungsindices gesunder Langzeittiere. Am 360. Versuchstag ist jedoch der Markierungsindex der Kontrolltiere wieder erreicht.

4.1.2 Befunde im Außenstreifen

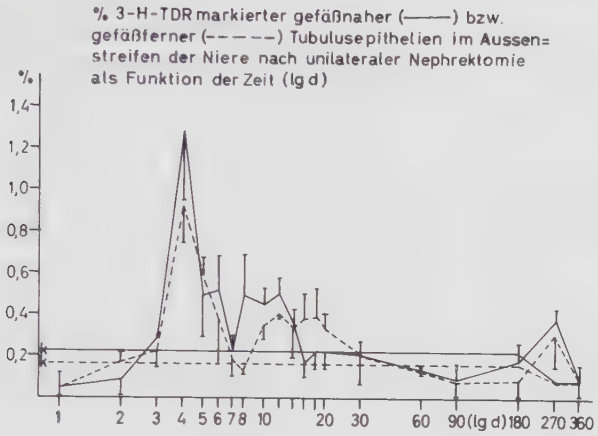

Abb. 16

Die Kurve der Markierungsindices durchläuft nach einem anfänglichen Minimum am 1. Tag ein erstes Maximum am 4. Versuchstag, das gefäßfern 5,3mal und gefäßnah 7mal über den Werten gesunder Kontrollen liegt. Nach einem Minimum am 7. (gefäßnah) bzw. 8. (gefäßfern) Tag folgt am 8.-12. Tag bei den gefäßnahen Tubulusepithelien und am 10.-20. Tag bei den gefäßfernen Zellen ein zweiter breitbasiger Markierungsgipfel. Dieser zweite Markierungsgipfel erreicht nicht die Höhe des ersten: Er liegt nur etwa doppelt so hoch wie der Markierungsindex gesunder Kontrolltiere.

Die Kurve der Markierungsindices der gefäßnahen Tubulusepithelien erreicht am 16. Tag wieder den Markierungswert gesunder Kontrolltiere. Bei den gefäßfernen Tubulusepithelien wird dieser Wert erst zwischen dem 20. und 30. Tag erreicht. Bis zum 180. Tag verlaufen die Markierungsindices dann im Bereich der Kontrollen. Am 270. Tag steigen die Markierungswerte zu einem 3. Maximum an, das bei den gefäßnahen Tubulusepithelien 4,2mal und bei den gefäßfernen Tubulusepithelien 3,6mal höhere Werte erreicht als bei den gesunden Langzeittieren. Am 360. Tag sind die Markierungsindices der Kontrolltiere wieder erreicht.

4.1.3 Befunde im Innenstreifen (s. Abb. 17)

Die Kurven der Markierungsindices der Tubulusepithelien des Innenstreifens durchlaufen nach einem flüchtigen Abfall am ersten postoperativen Tag ein erstes Maximum am 4. Versuchstag. Dabei liegen die Markierungsindices gefäßnah 12mal und gefäßfern 8,4mal höher als die entsprechenden Kontrollwerte.

Nach einem Abfall der Markierungsindices am 5. Tag steigt die Kurve am 6. Tag wieder zu einem zweiten Maximum an, das noch 3mal über dem der gesunden Tiere liegt. Vom 7. bis zum 20. Tag fallen die Markierungsindices - unterbrochen von kleineren Maxima und Minima - auf die Kontrollwerte ab. Bis zum 90. Versuchstag bleiben die Markierungsindices niedrig. Danach steigen sie bis zu einem 3. Maximum am 270. Tag erneut an. Dieser Wert liegt gefäßnah und gefäßfern 5mal höher als der Markierungsindex der gesunden Langzeittiere.

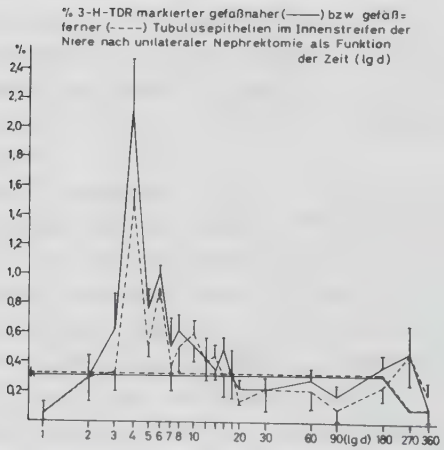

Abb. 17

4.2 Markierungsindices der Tubulusepithelien in der Rattenniere nach kontralateraler Nephrektomie und gleichzeitiger Ductus thoracicus-Blockade

4.2.1 Befunde in der Nierenrinde (s. Abb. 18)

Nach einem Minimum am 1. postoperativen Versuchstag steigen die Kurven der Markierungsindices nach dem 2. Versuchstag an bis zu einem ersten Maximum am 4. Tag, das gefäßnah 2,8 und gefäßfern 2,2mal höher als der Kontrollwert ist. Am 5. und 6. Tag durchlaufen die Kurven ein zweites Minimum, das aber immer noch über den Kontrollwerten liegt. Die Kurve gefäßnaher markierter Tubulusepithelien erreicht am 7. und 12. Tag ein zweites und drittes Maximum, das aber jeweils niedriger ist als das Maximum am 4. Tag.

Gefäßnah und gefäßfern findet man einen letzten Markierungsgipfel am 20. Versuchstag. Danach sinken die Werte allmählich ab, und zwar bei den gefäßfernen Tubulusepithelien etwas schneller als bei den gefäßnahen. Am 60. Versuchstag sind die Markierungsindices der Kontrollen erreicht.

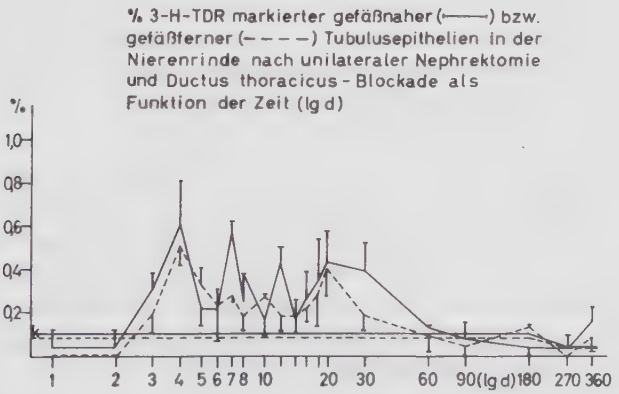

Abb. 18

4.2.2 Befunde im Außenstreifen

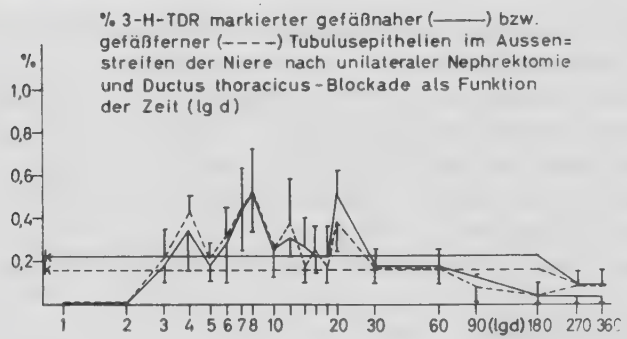

Abb. 19

Die Kurve der Markierungsindices durchläuft nach einem Minimum am 1. und 2. postoperativen Tag ein erstes Maximum am 4. Tag, welches gefäßnah 1,9mal und gefäßfern 2,5mal höhere Werte als bei den Kontrollen erreicht. Nach einem zweiten kleinen Minimum am 5. Tag erreichen die Kurven ein zweites Maximum am 8. Tag. Dieser zweite Gipfel ist höher als derjenige am 4. Versuchstag. Im Vergleich zu den Kontrollen ist das Maximum gefäßnah doppelt so hoch wie und gefäßfern 3,2mal höher als der Kontrollwert.

Vom 10. bis zum 18. Tag liegen die Markierungsindices nur wenig über bzw. im Bereich der Kontrollen. Am 20. Versuchstag wird ein dritter Markierungsgipfel erreicht, der gefäßnah fast ebenso hoch ist wie das 2. Maximum am 8. Tag. Gefäßfern liegt der Wert etwas niedriger. Am 30. Versuchstag haben die Markierungsindices die Werte der gesunden Kontrolltiere erreicht. Sie bleiben bis zum 360. Tag in diesem Bereich.

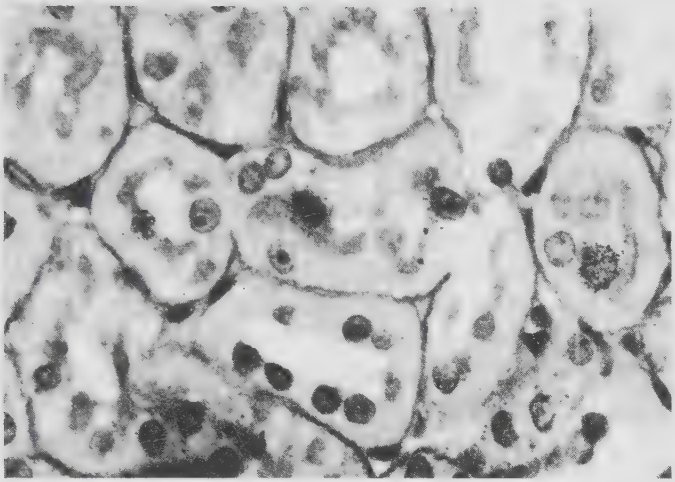

Abb. 20: ^{3}H-TdR-markierte Zellkerne im Außenstreifen der Niere (3. Tag nach unilateraler Nephrektomie und Ductus thoracicus-Blockade) (PAS, 1000x).

4.2.3 Befunde im Innenstreifen

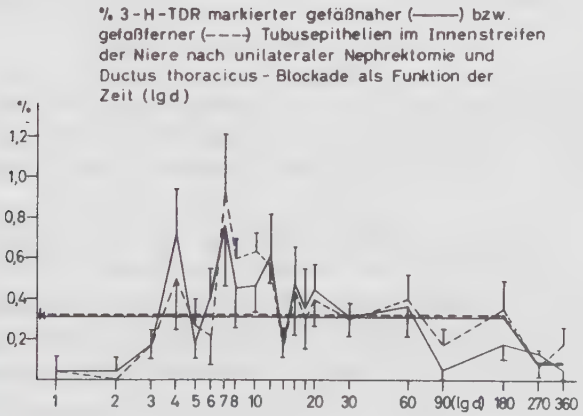

Abb. 21

Die Kurven der Markierungsindices der Tubulusepithelien erreichen nach einem Minimum am 1. und 2. Tag ihr erstes Maximum am 4. Tag, das gefäßnah 4,1mal und gefäßfern 2,8mal über den Werten der Kontrollen liegt. Nach einem weiteren Minimum am 5. und 6. Tag folgt am 7. postoperativen Tag ein zweiter Markierungsgipfel mit etwas höheren Werten als am 4. Tag. Bei den gefäßnahen Tubulusepithelien ist der Markierungsindex 6,0mal und bei den gefäßfernen 3,4mal höher als bei den Kontrollen. Vom 8. bis zum 12. Tag sind die Prozentsätze markierter Zellen abgesunken, liegen aber gefäßfern und gefäßnah noch deutlich über den Werten der Kontrollen. Am 14. Tag werden die Kontrollwerte bereits unterschritten. Jedoch steigen die Markierungsindices danach wieder an und liegen vom 16. bis zum 360. Tag im Bereich der Markierungsindices der gesunden Kontrolltiere.

4.3 Vergleich der Befunde (Markierungsindices der Tubulusepithelien) bei nephrektomierten Ratten mit und ohne gleichzeitige Ductus thoracicus-Blockade

Zwischen gefäßnahen und gefäßfernen Tubulusepithelien läßt sich in Bezug auf die Höhe des Markierungsindex sowohl bei nephrektomierten Tieren als auch bei Ratten mit Nephrektomie und gleichzeitiger Ductus thoracicus-Blockade kein wesentlicher Unterschied feststellen. Die Kurven verlaufen weitgehend parallel zueinander und haben ihre Maxima gefäßnah und gefäßfern durchweg an den gleichen Tagen.

Am 1. postoperativen Versuchstag kann man in sämtlichen Zonen der Niere in beiden Versuchsgruppen ein Absinken der Markierungsindices unter die Werte gesunder Kontrolltiere beobachten.

Während es bei den nephrektomierten Ratten bereits am zweiten Tag zu einer allmählichen Zunahme markierter Zellen kommt, beginnt dieser Anstieg bei den Ratten mit Nephrektomie und gleichzeitiger Ductus thoracicus-Blockade durchweg erst am 3. postoperativen Tag. Am 4. Versuchstag erreichen alle Kurven ein erstes Maximum. In der Nierenrinde bestehen dabei in der Höhe der Mar-

kierungsindices keine Unterschiede zwischen den beiden Versuchsgruppen. In beiden Gruppen liegen die Markierungsindices gefäßnah ca. 3mal und gefäßfern ca. 2,5-3mal höher als diejenigen der gesunden Kontrolltiere. Dagegen lassen sich am 4. Tag sowohl im Außenstreifen als auch im Innenstreifen beim Vergleich der Kurvenmaxima von nephrektomierten Ratten und Ratten mit einseitiger Nephrektomie und gleichzeitiger Ductus thoracicus-Blockade deutliche Unterschiede in der Höhe der Markierungsindices feststellen. Während im Außenstreifen und im Innenstreifen bei nephrektomierten Ratten die Markierungsindices Werte erreichen, die diejenigen der Kontrolltiere 6-12mal überschreiten, liegen diese Maxima bei den nephrektomierten Ratten mit gleichzeitiger Ductus thoracicus-Blockade nur 2-4mal über denen der Kontrollen und sind somit deutlich niedriger als die Markierungsindices der Ratten ohne Ductus thoracicus-Blockade.

In sämtlichen Nierenzonen beider Versuchsgruppen folgen auf diesen ersten Markierungsgipfel am 4. Tag noch weitere Maxima, bei denen jedoch hinsichtlich der Höhe der Markierungsindices keine Unterschiede zwischen den Versuchsgruppen mehr bestehen.

In der Rinde der nephrektomierten Tiere findet man vom 10.-16. Versuchstag ein breitbasiges Maximum sowohl bei den gefäßnahen als auch bei den gefäßfernen Tubulusepithelien. Bei den nephrektomierten Tieren mit Ductus thoracicus-Blockade folgt ein solcher Gipfel erst am 20. Tag.

Im Außenstreifen der nephrektomierten Ratten folgt auf den Markierungsgipfel am 4. Tag gefäßnah ein zweites breitbasiges Maximum vom 8. bis zum 14. Tag und gefäßfern vom 10. bis zum 20. Tag. Die nephrektomierten Ratten mit gleichzeitiger Ductus thoracicus-Blockade haben ein zweites Maximum markierter Zellen am 8. Tag und einen dritten Markierungsgipfel am 20. Tag.

Bei den Tubulusepithelien des Innenstreifens findet man den zweiten Markierungsgipfel bei den nephrektomierten Tieren am 6. und bei den nephrektomierten Tieren mit Ductus thoracicus-Blockade am 7. Tag. Ein weiteres Maximum am 20. Tag, das bei den nephrek-

tomierten Ratten mit Ductus thoracicus-Blockade in Rinde und Aussenstreifen deutlich sichtbar war, ist im Innenstreifen nur angedeutet vorhanden.

Im Langzeitversuch fällt bei den nephrektomierten Tieren ein erneuter Anstieg markierter Zellen am 270. Tag auf, nachdem die Werte bereits vorher unter die Markierungsindices gesunder Kontrollen abgesunken waren.

Bei den nephrektomierten Tieren ist das Markierungsmaximum am 4. Tag zugleich der höchste Wert des gesamten Versuchszeitraums. Das gleiche gilt für das Markierungsmaximum in der Rinde der Tiere mit Nephrektomie und gleichzeitiger Ductus thoracicus-Blockade. Dagegen tritt im Innenstreifen und im Außenstreifen dieser Versuchsgruppe das höchste Markierungsmaximum erst am 7. (Innenstreifen) bzw. 8. (Außenstreifen) Versuchstag auf. Das Maximum am 4. Tag ist deutlich niedriger als die vergleichbaren Markierungsindices bei den nephrektomierten Tieren ohne Ductus thoracicus-Blockade.

Ungefähr ab dem 7. Versuchstag bestehen in der Höhe der Markierungsindices keine Unterschiede mehr zwischen nephrektomierten Ratten mit und ohne Ductus thoracicus-Blockade.

Bei beiden Versuchsgruppen sinken die Markierungsindices als erstes im Innenstreifen wieder bis auf die Werte der Kontrollen ab. Am 14. postoperativen Tag werden diese Werte erreicht. Im Aussenstreifen unterschreiten die Markierungsindices in beiden Gruppen zwischen dem 20. und 30. Tag die Kontrollwerte. In der Rinde gibt es folgende Unterschiede zwischen den Versuchsgruppen: Die Markierungsindices bei den nephrektomierten Tieren haben am 30. Tag diejenigen der Kontrollen erreicht, bei den nephrektomierten Tieren mit Ductus thoracicus-Blockade erst am 60. Tag.

Vergleicht man die Höhe der Markierungsindices in den verschiedenen Nierenzonen, so werden bei den nephrektomierten Tieren die höchsten Markierungsindices im Innenstreifen erreicht, dann folgt der Außenstreifen, und schließlich die Rinde. Auch bei den ne-

phrektomierten Tieren mit Ductus thoracicus-Blockade führt der Innenstreifen in der Höhe des Markierungsindex. Zwischen Rinde und Außenstreifen bestehen keine wesentlichen Unterschiede.

Insgesamt liegen die Kurvenmaxima bei den nephrektomierten Ratten mit Ductus thoracicus-Blockade zeitlich um 1-2 Tage hinter denen der nephrektomierten Ratten, und sie sind niedriger.

4.4 Markierungsindices der Tubulusepithelien in der Innenzone der Niere

4.4.1 Befunde bei nephrektomierten Tieren

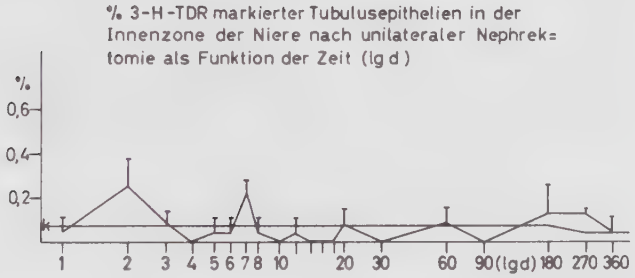

Abb. 22

Die Kurve der Markierungsindices verläuft am 1. postoperativen Tag im Bereich der Kontrollen. Am 2. Tag erreicht sie bereits ein erstes Maximum, das ca. 3mal höher als der Kontrollwert ist. Vom 3. bis zum 6. Tag folgt ein breitbasiges Minimum mit Werten im Bereich der Kontrollen. Am 7. Tag folgt dann ein zweites Maximum, das nicht ganz so hoch ist wie das erste. Vom 8. bis zum 90.

Versuchstag liegen die Markierungsindices der Versuchstiere nicht höher als diejenigen der Kontrollen . Am 90. Tag steigen sie erneut an bis zu einem breitbasigen Maximum, das vom 180. bis zum 270. Tag andauert und ca. 3mal über den Werten der Langzeitkontrolltiere liegt. Die Kurve endet am 360. Tag im Bereich der Kontrollen.

4.4.2 Befunde bei nephrektomierten Tieren mit gleichzeitiger Blockade des Ductus thoracicus

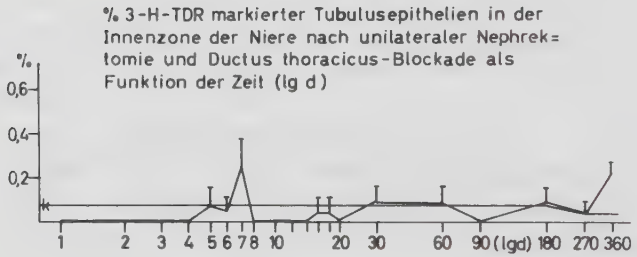

Abb. 23

In der Innenzone der Nieren dieser Tiere finden sich vom 1. bis zum 4. postoperativen Tag keine markierten Zellen. Erst am 5. Tag steigt die Kurve der Markierungsindices bis zu einem Maximum am 7. Tag an, welches 3,5mal höher als bei den Kontrollen ist. Danach durchläuft die Kurve vom 8. bis zum 14. Tag ein zweites breites Minimum. Sie bleibt schließlich bis zum 270. Tag unter bzw. im Bereich der Kontrollen. Am 360. Tag endet die Kurve bei einem Wert, der mehr als 4mal so hoch ist wie der Markierungsindex der Langzeitkontrolltiere.

4.5 Vergleich der Markierungsindices der Tubulusepithelien in der Innenzone der Niere bei nephrektomierten Ratten und Ratten mit Nephrektomie und Ductus thoracicus-Blockade

Die Kurve der Markierungsindices bei den nephrektomierten Ratten erreicht am 2. Versuchstag einen ersten Markierungsgipfel, während die Kurve bei den nephrektomierten Ratten mit Ductus thoracicus-Blockade bis zum 4. Versuchstag ein breitbasiges Minimum durchläuft. Erst am 5. Versuchstag steigt der Markierungsindex allmählich an bis zu einem ersten Maximum am 7. Versuchstag, das genauso hoch ist wie der entsprechende Markierungsgipfel bei den nephrektomierten Tieren. Vom 7. Tag an liegen die Markierungsindices in beiden Versuchsgruppen etwa in gleicher Höhe. Bei den nephrektomierten Tieren folgt vom 180.-270. Tag noch einmal ein Maximum.

4.6 Markierungsindices der Interstitialzellen in der Rattenniere nach kontralateraler Nephrektomie

4.6.1 Befunde in der Nierenrinde

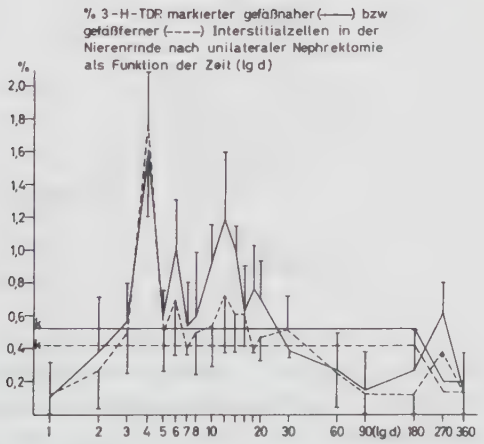

Abb. 24

Die Kurven der Markierungsindices gefäßnaher und gefäßferner Interstitialzellen durchlaufen am ersten postoperativen Versuchstag zunächst ein erstes Minimum. Am 2. Tag folgt ein Anstieg bis zu einem Maximum am 4. Versuchstag, das bei den gefäßnahen Interstitialzellen 3mal und bei den gefäßfernen 4,2mal höher als der Markierungswert der Kontrollen ist. Weitere kleine Maxima folgen am 6. und am 12. Tag. Die Prozentsätze gefäßnaher markierter Zellen liegen dabei über denen gefäßferner Interstitialzellen. Nach dem 12. Tag fallen die Markierungsindices kontinuierlich ab und liegen am 90. Tag noch unter denen der gesunden Kontrollen. Am 270. Tag folgt noch einmal ein Maximum. Dabei liegt der Markierungsindex gefäßnah 4mal und gefäßfern 2,7mal über dem der Kontrolltiere. Die Kurve endet am 360. Tag im Kontrollbereich.

4.6.2 Befunde im Außenstreifen

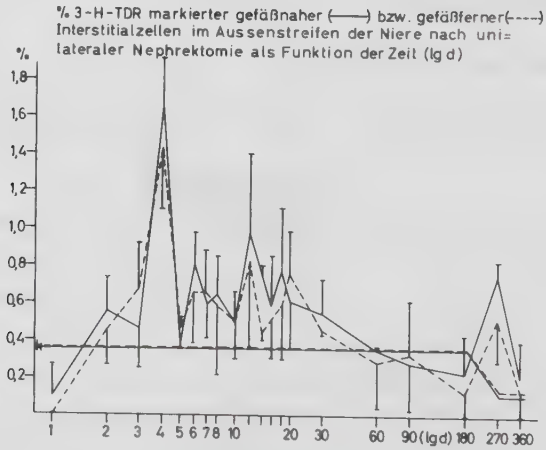

Abb. 25

Die Kurve der Markierungsindices gefäßnaher und gefäßferner Interstitialzellen durchläuft am 1. postoperativen Tag ein Minimum. Am 2. Tag beginnt ein Anstieg bis zu einem ersten Maximum am 4. Tag. Dieses ist bei den gefäßnahen Interstitialzellen 4,6mal und bei

den gefäßfernen Zellen 4mal höher als bei den gesunden Kontrolltieren. Weitere kleine Maxima folgen am 6.-8., am 12. und am 18. (gefäßnah) und 20. (gefäßfern) postoperativen Tag. Zwischen dem 30. und 60. Tag erreichen die Markierungsindices die Kontrollwerte wieder. Bei den Langzeittieren folgt am 270. Tag noch einmal ein Markierungsgipfel (gefäßnah 6,5 und gefäßfern 3,3mal höher als bei den Kontrollen). Die Markierungsindices sinken bis zum 360. Tag wieder in den Bereich der Kontrolltiere ab.

4.6.3 Befunde im Innenstreifen

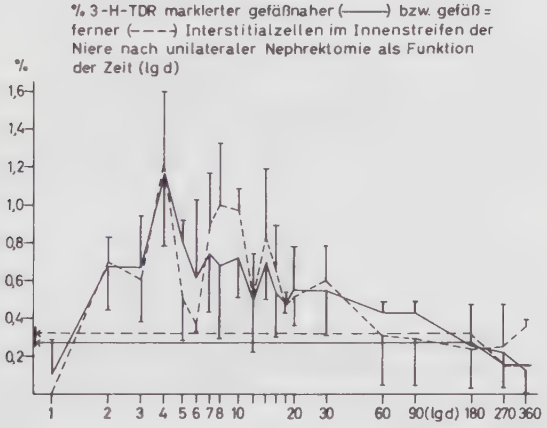

Abb. 26

Die Kurve markierter Interstitialzellen im Innenstreifen durchläuft am 1. postoperativen Tag ein Minimum. Danach erfolgt ein Anstieg markierter Zellen bis zu einem ersten Maximum am 4. Tag, das gefäßnah 4,3mal und gefäßfern 3,8mal höher als der Wert bei gesunden Kontrolltieren liegt. Nach einem Absinken des Markierungsindex am 5. und 6. Tag folgen gefäßfern und gefäßnah breitbasige Kurvenmaxima vom 7. bis zum 10. Tag und ein weiteres Maximum am 14. Tag. Die Kurve der Markierungsindices der gefäßfernen Intersti-

tialzellen verläuft nach dem 60. Tag wieder im Bereich der Kontrolltiere, diejenige der gefäßnahen Zellen erst wieder zwischen dem 90. und 180. Tag. Die Kurve der gefäßnahen markierten Zellen bleibt bis zum 360. Tag in diesem Bereich, diejenige der gefäßfernen Zellen endet am 360. Tag mit einem Wert, der etwa doppelt so hoch wie der Kontrollwert ist.

4.7 Markierungsindices der Interstitialzellen in der Rattenniere nach kontralateraler Nephrektomie und gleichzeitiger Ductus thoracicus-Blockade

4.7.1 Befunde in der Nierenrinde

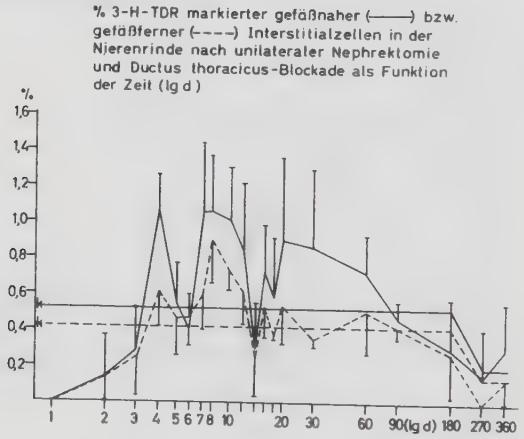

Abb. 27

Die Kurve der Markierungsindices steigt - nachdem sie am 1. Versuchstag ein Minimum durchlaufen hat - bis zu einem ersten Maximum am 4. Tag an. Der Maximalwert ist bei den gefäßnahen Interstitialzellen doppelt so hoch und bei den gefäßfernen Zellen 1,5 mal so hoch wie der Markierungsindex bei den Kontrolltieren. Ein zweiter Markierungsgipfel folgt bei den gefäßnahen Interstitial-

zellen vom 7.-12. Tag, bei den gefäßfernen Interstitialzellen am 8.-10. Tag. Dieser Gipfel ist gefäßnah genauso hoch, gefäßfern wesentlich höher als der erste Markierungsgipfel am 4. Versuchstag.

Der Markierungsindex der gefäßfernen Zellen bewegt sich ab dem 14. Tag bis zum Versuchsende mit kleineren Schwankungen in Höhe des Index der Kontrolltiere. Die gefäßnahen Interstitialzellen haben ein spitzgipfliges Maximum am 16. Versuchstag und ein weiteres breitbasiges Maximum vom 20.-60. Tag. Danach sinkt der Markierungsindex auf die Werte der Kontrolltiere ab.

4.7.2 Befunde im Außenstreifen

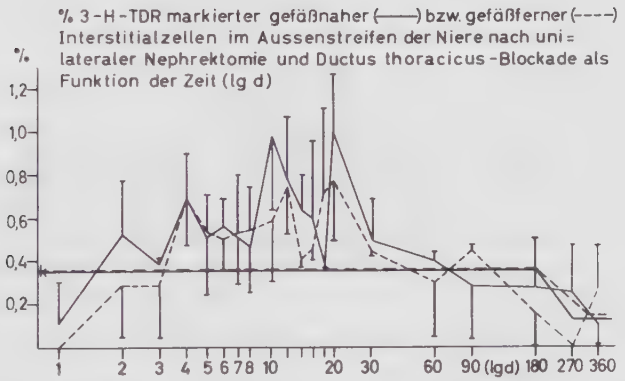

Abb. 28

Am 1. Versuchstag liegen die Markierungsindices gefäßnaher und gefäßferner Interstitialzellen im Außenstreifen deutlich unter den Werten der Kontrollen. Am 2. Versuchstag folgt gefäßnah ein kleiner erster Markierungsgipfel, dem sowohl bei den gefäßfernen als auch bei den gefäßnahen Zellen ein größeres Maximum am 4. Tag

folgt. Dieses erreicht etwa die doppelte Höhe der Kontrollwerte. Vom 5. bis zum 8. Tag durchlaufen beide Kurven ein breitbasiges Minimum. Ein weiterer Markierungsgipfel liegt bei den gefäßnahen Zellen am 10. Tag, bei den gefäßfernen am 12. Tag. Ein letztes Maximum folgt bei den gefäßfernen und den gefäßnahen Zellen am 20. Tag. Vom 30. Versuchstag an liegen die Werte im Bereich der Kontrollen.

4.7.3 Befunde im Innenstreifen

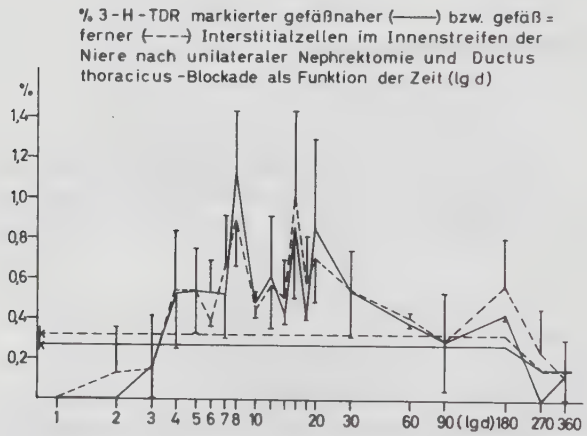

Abb. 29

Am 1. und 2. Versuchstag durchlaufen die Kurven der Markierungsindices gefäßnaher und gefäßferner Interstitialzellen ein Minimum. Ein breitbasiger Markierungsgipfel folgt bei den gefäßnahen Zellen vom 4. bis zum 7. Tag, bei den gefäßfernen am 4. und 5. Tag. Gefäßnah ist dieses Maximum doppelt so hoch und gefäßfern 1,5mal so hoch wie die Kontrollwerte. Weitere spitzgipflige Maxima folgen am 8., 16. und 20. Versuchstag. Nach dem 20. Tag fallen die Markierungsindices gefäßnah und gefäßfern kontinuierlich ab und erreichen am 60. Tag die Werte der Kontrollen.

In beiden Kurven folgt am 180. Tag noch einmal ein kleinerer Markierungsgipfel. Am 360. Tag enden beide Kurven im Bereich der Kontrollen.

4.8 Vergleich der Befunde (Markierungsindices der Interstitialzellen) bei nephrektomierten Ratten mit und ohne gleichzeitige Ductus thoracicus-Blockade

Bei den Interstitialzellen verlaufen die Markierungsindices gefäßferner und gefäßnaher Zellen - ebenso wie bei den Tubulusepithelien - weitgehend parallel zueinander und unterscheiden sich in Höhe und Verlauf nicht grundlegend voneinander. Nach einem postoperativen Abfall am 1. Versuchstag steigen die Kurven der Markierungsindices in beiden Versuchsgruppen am 2. Tag wieder an. Am 4. postoperativen Tag findet man den ersten Markierungsgipfel in sämtlichen Nierenzonen. Dieses Maximum ist bei den nephrektomierten Ratten mit Ductus thoracicus-Blockade deutlich niedriger als bei den nur nephrektomierten Tieren.

Dem 1. Gipfel am 4. Tag folgen weitere Maxima, die bei den nephrektomierten Ratten jeweils kleiner, bei den nephrektomierten Tieren mit gleichzeitiger Blockade des Ductus thoracicus jedoch größer sind als das Maximum am 4. Tag. Diese Markierungsgipfel folgen bei den Ratten mit Nephrektomie und Ductus thoracicus-Blokkade mit ein- bis zweitägiger Verzögerung gegenüber den Gipfeln der nur nephrektomierten Tiere. In beiden Versuchsgruppen liegen die Markierungsindices ab dem 7. Tag in gleicher Höhe.

Am 18. Versuchstag erreichen die Markierungsindices in der Rinde bei beiden Versuchsgruppen wieder die Werte gesunder Kontrollen. Im Außenstreifen geschieht dies am 30. Tag und im Innenstreifen am 60. Tag.

Die höchsten Werte für den Markierungsindex finden sich bei den Ratten mit alleiniger Nephrektomie in der Rinde, dann folgen Aussenstreifen und Innenstreifen.

Auch bei den Ratten mit Nephrektomie und Ductus thoracicus-Blokkade erreicht der Prozentsatz markierter Zellen in der Rinde die höchsten Werte. Dann folgt in der Reihenfolge der Zonen jedoch der Innenstreifen und erst danach der Außenstreifen.

4.9 Markierungsindices der Interstitialzellen in der Innenzone der Niere

4.9.1 Befunde bei nephrektomierten Ratten

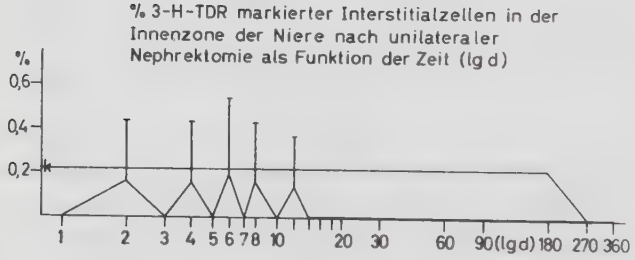

Abb. 30

Der Prozentsatz markierter Zellen liegt während des gesamten Versuchszeitraums unter den Werten der gesunden Kontrollen. Vom 14. Tag bis zum Ende des Versuchszeitraums am 360. Tag fanden wir keine markierten Zellen in der Innenzone mehr.

4.9.2 Befunde bei Ratten nach kontralateraler Nephrektomie und gleichzeitiger Blockade des Ductus thoracicus

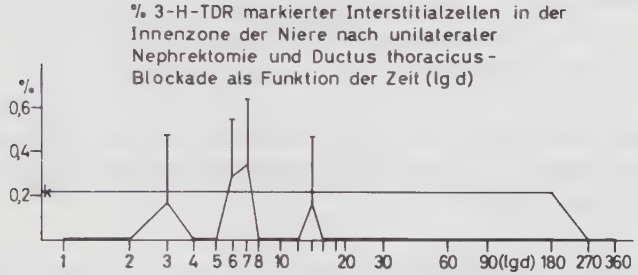

Abb. 31

Am 1. und 2. postoperativen Tag liegt die Kurve im Nullbereich, steigt am 3. Tag etwas an, um am 4. und 5. Tag erneut bis auf Null abzufallen. Am 7. Tag liegt der Markierungsindex etwa 1,3mal höher als der Kontrollwert. Danach sinkt er erneut bis auf Null ab. Nach dem 16. Tag findet man auch bei den nephrektomierten Tieren mit Ductus thoracicus-Blockade in der Innenzone keine markierten Zellen mehr.

4.10. Vergleich der Markierungsindices der Interstitialzellen in der Innenzone der Niere bei nephrektomierten Ratten und Ratten mit Nephrektomie und gleichzeitiger Ductus thoracicus-Blockade

In der Innenzone läßt sich sowohl bei den nephrektomierten Tieren als auch bei den Tieren mit Nephrektomie und Ductus thoracicus-

Blockade keine wesentliche DNS-Synthese-Aktivität feststellen. Bei den nephrektomierten Tieren werden die Werte der gesunden Kontrollen überhaupt nicht überschritten. Bei den Ratten mit Nephrektomie und Ductus thoracicus-Blockade erreicht der Markierungsindex am 7. Versuchstag einen Wert, der ca. 1,3mal höher als der der Kontrolltiere ist. Bei den nephrektomierten Ratten findet man nach dem 14. und bei den Ratten mit Nephrektomie und Ductus thoracicus-Blockade nach dem 16. Tag keine markierten Zellen mehr in der Innenzone.

4.11 Wachstumsfraktion bei Ratten nach unilateraler Nephrektomie mit und ohne gleichzeitige Blockade des Ductus thoracicus (4. postop. Tag)

4.11.1 Befunde bei Tubulusepithelien (s. Tab. 1 u. Abb. 32)

Die Zahl ^{3}H-TdR-markierter Tubulusepithelien steigt in den ersten 48 Stunden nach Versuchsbeginn kontinuierlich an, um dann auf ein Plateau einzuschwenken. Nach 72 Stunden sind in der Nierenrinde der nephrektomierten Ratten knapp 3,0 % der Zellkerne markiert. Im Außenstreifen beträgt der Markierungsindex 2,9 % und im Innenstreifen 2,8 %.

Bei den Ratten mit Nephrektomie und Ductus thoracicus-Blockade waren nach 72 Stunden in der Rinde 1,6 %, im Außenstreifen 1,1 % und im Innenstreifen knapp 1,5 % der Tubulusepithelien markiert. Die Wachstumsfraktion dieser Versuchsgruppe ist also im Vergleich mit der Wachstumsfraktion bei Ratten mit alleiniger Nephrektomie deutlich abgefallen.

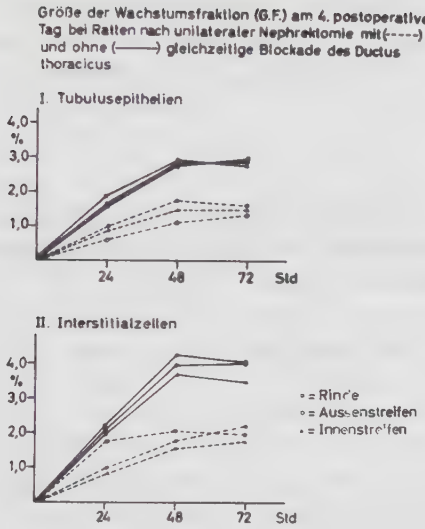

Abb. 32

4.11.2 Befunde bei Interstitialzellen (s. Tab. 2 u. Abb. 32)

Auch bei den Interstitialzellen nimmt die Zahl ^{3}H-TdR-markierter Zellen in den ersten 48 Stunden nach Versuchsbeginn stetig zu und erreicht dann ein Plateau. Nach 72 Stunden sind bei den Ratten mit alleiniger Nephrektomie in der Nierenrinde und im Außenstreifen knapp 4,1 % der Interstitialzellen markiert. Im Innenstreifen ist der Markierungsindex mit 3,5 % etwas niedriger.

Nach unilateraler Nephrektomie und Ductus thoracicus-Blockade ist der Markierungsindex in der Nierenrinde nur auf 2,0 % angestiegen. Im Außenstreifen beträgt er jetzt knapp 2,2 % und im Innenstreifen 1,8 %. Im Vergleich zu den Versuchstieren ohne Ductus thoracicus-Blockade hat die Zahl der markierten Zellen in allen Nierenzonen stark abgenommen.

4.12 Dauer der S-Phase bei Ratten nach unilateraler Nephrektomie mit und ohne gleichzeitige Ductus thoracicus-Blockade (4. postoperativer Tag)

4.12.1 Befund bei Tubulusepithelien (s. Tab. 1)

Die S-Phasendauer ist bei Ratten mit alleiniger Nephrektomie in Rinde, Außenstreifen und Innenstreifen fast gleichlang. Der untere Grenzwert, der exponentiellen Wachstumsbedingungen entspricht, beträgt in der Rinde 5,3 Stunden, um Außenstreifen 4,3 Stunden und im Innenstreifen 3,4 Stunden. Der obere Grenzwert für die S-Phasendauer beträgt in der Nierenrinde 6,0 Stunden, im Außenstreifen 5,0 Stunden und im Innenstreifen 3,9 Stunden. Er entspricht der Länge der S-Phase im "steady state".

Bei Ratten mit Nephrektomie und Ductus thoracicus-Blockade besteht in der S-Phasendauer zwischen den einzelnen Nierenzonen ebenfalls nur wenig Unterschied. Gegenüber der Vergleichsgruppe mit alleiniger Nephrektomie hat sich die S-Phasendauer verlängert. In der Nierenrinde beträgt ihre Dauer zwischen 6,3 und 7,2 Stunden. Im Außenstreifen dauert die S-Phase zwischen 5,6 und 6,4 Stunden, und im Innenstreifen zwischen 5,9 und 6,9 Stunden.

4.12.2 Befunde bei Interstitialzellen (s. Tab. 2)

Bei Ratten mit alleiniger Nephrektomie dauert die S-Phase in der Rinde zwischen 4,6 (exponentielles Wachstum) und 5,3 Stunden (steady state), im Außenstreifen zwischen 3,0 und 3,4 Stunden und im Innenstreifen zwischen 2,6 und 3,0 Stunden. Zwischen den einzelnen Zonen bestehen also keine großen Unterschiede in der Länge der S-Phase.

Bei den Versuchstieren mit Nephrektomie und Ductus thoracicus-Blokkade dauert die S-Phase insgesamt länger als bei den Ratten mit alleiniger Nephrektomie: Die S-Phasenlänge beträgt in der Rinde zwischen 5,0 und 5,8 Stunden, im Außenstreifen 4,3 bis 5,0 Stunden und im Innenstreifen 6,0 bis 6,9 Stunden.

4.13 Dauer des Zellzyklus (T_c) bei Ratten nach unilateraler Nephrektomie mit und ohne gleichzeitige Ductus thoracicus-Blokkade (4. postoperativer Tag)

4.13.1 Befunde bei Tubulusepithelien (s. Tab. 1)

In der Gesamtzellzyklusdauer bestehen erhebliche Unterschiede zwischen den einzelnen Nierenzonen. Bei den Ratten mit alleiniger Nephrektomie dauert der gesamte Zellzyklus in der Nierenrinde mit 23,6 Stunden (exponentielles Wachstum) bzw. 27,1 Stunden (steady state) ca. 4mal länger als im Innenstreifen, wo die Zyklusdauer unter exponentiellen Wachstumsbedingungen lediglich 5,3 Stunden und unter steady state-Bedingungen 6,1 Stunden beträgt. Im Außenstreifen dauert der Zellzyklus zwischen 11,2 Stunden (exponentielles Wachstum) und 13,0 Stunden (steady state).

Bei den Ratten mit Nephrektomie und Ductus thoracicus-Blockade bestehen dagegen geringere Unterschiede in der Dauer des Zellzyklus zwischen den Nierenzonen. In der Rinde beträgt die Zyklusdauer zwischen 18,3 und 21,1 Stunden, im Außenstreifen zwischen 18,6 und 21,6 Stunden und im Innenstreifen zwischen 14,7 und 16,9

Stunden. Der untere Grenzwert entspricht dabei der Zyklusdauer unter exponentiellen Wachstumsbedingungen, der obere Grenzwert entspricht der Zyklusdauer im steady state.

4.13.2 Befunde bei den Interstitialzellen (s. Tab. 2)

Auch bei den Interstitialzellen ist die Gesamtzellzyklusdauer in den einzelnen Nierenzonen unterschiedlich; die Unterschiede sind jedoch geringer als bei den Tubulusepithelien. Die Zellzyklusdauer ist bei den Ratten mit Nephrektomie in der Nierenrinde um ca. 3-4 Stunden länger als im Innenstreifen. In der Nierenrinde dauert der Zellzyklus 10,7 (exponentielles Wachstum) bis 12,4 Stunden (steady state). Im Außenstreifen beträgt die Dauer 7,8 bis 9,0 Stunden und im Innenstreifen 7,6 bis 8,7 Stunden.

Bei den Ratten mit Nephrektomie und Ductus thoracicus-Blockade hat sich die Zellzyklusdauer im Vergleich zur Versuchsgruppe mit alleiniger Nephrektomie in sämtlichen Nierenzonen verlängert. In der Rinde beträgt die Zellzyklusdauer jetzt 12,2 bis 14,1 Stunden, im Außenstreifen zwischen 13,7 und 15,8 Stunden und im Innenstreifen 20,3 bis 23,3 Stunden. Damit ist die Verlängerung des Zellzyklus im Innenstreifen am stärksten und am wenigsten stark in der Nierenrinde sichtbar.

4.14 Dauer der $(G_2 + M)_{min}$-Phase bei Tubulusepithelien und Interstitialzellen von Ratten nach unilateraler Nephrektomie mit und ohne gleichzeitige Blockade des Ductus thoracicus am 4. Tag nach Nephrektomie (s. Tab. 1 und Tab. 2)

Die Zeitdauer für $(G_2 + M)_{min}$ ermittelten wir näherungsweise durch Aufsuchen markierter Mitosen in den Doppelmarkierungsautoradiogrammen der Versuchsgruppe 2.1.5. Wir fanden sowohl für Tubulusepithelien als auch für Interstitialzellen in beiden Versuchsgruppen markierte Mitosen in Rinde, Außenstreifen und Innenstreifen. Alle Tiere hatten 2 Stunden nach einer ersten ^{3}H-TdR-Injektion über-

lebt. Nach 2 Stunden hatten also in Rinde, Außen- und Innenstreifen die ersten Tubulusepithelien und Interstitialzellen die DNS-Synthese abgeschlossen und waren nach Durchlaufen der G_2-Phase in die Mitose eingetreten, d.h. die Zeitdauer für $(G_2 + M)_{min}$ beträgt für die Tubulusepithelien und Interstitialzellen in Rinde, Außenstreifen und Innenstreifen beider Versuchsgruppen mindestens 2 Stunden.

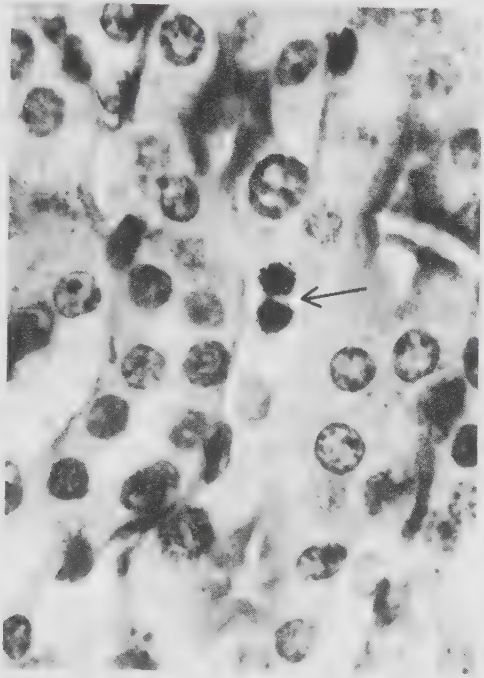

Abb. 33: ^{3}H-TdR-markierte Zellkerne im Außenstreifen der Niere (4. Tag nach unilateraler Nephrektomie).
Der Pfeil weist auf die markierte Mitose einer Tubulusepithelzelle hin (PAS, 1200 x).

4.15 Dauer der G_1-Phase bei Ratten nach unilateraler Nephrektomie mit und ohne gleichzeitige Blockade des Ductus thoracicus (4. postop. Tag)

4.15.1 Befunde bei Tubulusepithelien (s. Tab. 1)

Bei den Tubulusepithelien nephrektomierter Ratten ermittelten wir in der Nierenrinde eine G_1-Phasendauer von 16,3-19,1 Stunden. Im Außenstreifen dauert G_1 zwischen 4,9 und 6,0 Stunden und im Innenstreifen 0,18 Stunden. Einen unteren Grenzwert konnten wir im Innenstreifen nicht bestimmen. Möglicherweise treten die Tubulusepithelien des Innenstreifens unter exponentiellen Wachstumsbedingungen aus der Mitose direkt wieder in eine neue DNS-Synthesephase ein ohne eine G_1-Phase zu durchlaufen, oder aber die Dauer von G_1 ist so kurz, daß sie mit unseren Methoden nicht mehr meßbar ist.

Bei den Ratten mit Nephrektomie und Ductus thoracicus-Blockade sind die Unterschiede in der Dauer von G_1 zwischen den verschiedenen Nierenzonen kleiner geworden. In der Rinde hat die Dauer von G_1 im Vergleich zur Versuchsgruppe ohne Ductus thoracicus-Blockade abgenommen und beträgt jetzt nur noch 10,0 - 11,9 Stunden. Im Außenstreifen dauert G_1 11,1 - 13,1 Stunden, und im Innenstreifen 6,8 - 10,1 Stunden.

4.15.2 Befunde bei Interstitialzellen (s. Tab. 2)

Zwischen der Dauer der G_1-Phase in Rinde, Außenstreifen und Innenstreifen bestehen bei den Interstitialzellen nephrektomierter Ratten ohne Ductus thoracicus-Blockade nur geringe Unterschiede: G_1 dauert in der Rinde 4,2 - 5,1 Stunden, im Außenstreifen 2,8 - 3,6 Stunden und im Innenstreifen 3,0 - 3,7 Stunden.

Bei den Ratten mit gleichzeitiger Ductus thoracicus-Blockade hat sich die G_1-Phase in allen Nierenzonen verlängert: In der Rinde beträgt die Dauer jetzt 5,2 - 6,3 Stunden, im Außenstreifen 7,4 - 10, 8 Stunden und im Innenstreifen 14,3 - 16,5 Stunden.

4.16 Tabellarische Zusammenfassung der Ergebnisse

T A B E L L E 1 : Zusammenfassung der Ergebnisse bei Tubulusepithelien

Befunde bei unilateral nephrektomierten Ratten

		ohne gleichzeitige Blokkade des Ductus thoracicus			mit gleichzeitiger Blokkade des Ductus thoracicus			Methode
		RINDE	AUßEN-STREIFEN	INNEN-STREIFEN	RINDE	AUßEN-STREIFEN	INNEN-STREIFEN	
Gesamtzellzahl		4553	4713	4584	4532	4566	4481	
MARKIERUNGSINDEX (L.I.) (%)	gefäßnah	0,65	1,28	2,08	0,60	0,35	0,72	^{3}H-TdR-Pulsmarkierung
	gefäßfern	0,66	0,92	1,45	0,50	0,43	0,49	
WACHSTUMSFRAKTION (G.F.) (%)	24 Std.	1,53	1,63	1,88	0,97	0,61	0,84	wiederholte Pulsmarkierungen mit ^{3}H-TdR
	48 Std.	2,76	2,80	2,93	1,74	1,12	1,48	
	72 Std.	2,96	2,88	2,79	1,61	1,32	1,49	
WACHSTUMSFRAKTION theoret. (72 Std.)	%	2,96	2,86	2,74	1,60	1,31	1,49	berechnet, s. 2.4.2
S-PHASE (T_s) (Std.)	min	5,25	4,31	3,37	6,28	5,56	5,94	Doppelmarkierung mit ^{3}H-TdR und ^{14}C-TdR
	max	6,03	4,97	3,89	7,24	6,44	6,85	
$(T_{G_2} + T_M)_{min}$	(Std.)	2	2	2	2	2	2	Bestimmung mit Hilfe der Autoradiogramme der Versuchsgruppe 2.5
G_1-Phase (T_{G_1})	min	16,34	4,93		10,02	11,07	6,76	berechnet s. 2.4.6
T_{G_1} (Std.)	max	19,06	6,0	0,18	11,95	13,13	10,10	
Zellzyklusdauer	min	23,59	11,24	5,25	18,30	18,63	14,70	berechnet s. 2.4.4
T_c Std.	max	27,09	12,97	6,07	21,10	21,57	16,95	

TABELLE 2: Zusammenfassung der Ergebnisse bei Interstitialzellen

Befunde bei unilateral nephrektomierten Ratten

			ohne gleichzeitige Blokkade des Ductus thoracicus			mit gleichzeitiger Blokkade des Ductus thoracicus			Methode
			RINDE	AUßEN-STREIFEN	INNEN-STREIFEN	RINDE	AUßEN-STREIFEN	INNEN-STREIFEN	
Gesamtzellzahl			1447	1287	1416	1468	1434	1519	
MARKIERUNGSINDEX (L.I.)	gefäßnah	%	1,61	1,65	1,17	1,06	0,69	0,53	^{3}H-TdR-Pulsmarkierung
	gefäßfern	%	1,77	1,43	1,12	0,61	0,68	0,54	
WACHSTUMSFRAKTION (G.F.)	24 Std.	%	2,21	2,17	1,95	1,75	0,98	0,80	wiederholte Pulsmarkierung mit ^{3}H-TdR
	48 Std.	%	4,24	3,97	3,70	2,08	1,79	1,55	
	72 Std.	%	4,06	4,07	3,47	1,99	2,21	1,78	
G.F. theoret.	72 Std.	%	3,97	4,03	3,47	2,03	2,18	1,79	berechnet, s. 2.4.2
S-PHASE (T_s)	min	Std	4,57	2,98	2,63	4,99	4,32	6,01	Doppelmarkierung mit ^{3}H-TdR und ^{14}C-TdR
	max	Std	5,26	3,44	3,02	5,77	4,98	6,92	
$(T_{G_2} + T_M)_{min}$		Std	2	2	2	2	2	2	Bestimmung mit Hilfe der Autoradiogramme der Versuchsgruppe 2.1.5
G_1-Phase (T_{G_1})	min	Std	4,17	2,82	2,97	5,16	7,37	14,30	berechnet, s. 2.4.6
	max	Std	5,09	3,56	3,70	6,28	10,80	16,47	
ZELLZYKLUSDAUER (T_c)	min	Std	10,74	7,80	7,60	12,15	13,69	20,31	berechnet, s. 2.4.4
	max	Std	12,35	9,00	8,72	14,05	15,78	23,39	

5. Besprechung der Befunde

Ziel der vorliegenden Arbeit ist es, das Proliferationsverhalten der verbliebenen Niere nach unilateraler Nephrektomie mit und ohne Lymphstase zu untersuchen.

Als Maß der Proliferationsaktivität diente uns dabei der ^{3}H-TdR-Markierungsindex (L.I. = labeling index). Der L.I. gibt zunächst lediglich den Prozentsatz der Zellen an, die sich zum Zeitpunkt einer singulären ^{3}H-TdR-Injektion und 40-60 Minuten danach (Verfügbarkeitszeit des Thymidin im Organismus)(SCHULTZE, 1968) in der DNS-Verdoppelungsphase (S-Phase) des Zellzyklus befinden. In der Niere kann man den ^{3}H-TdR-Markierungsindex jedoch gleichzeitig als Maß für die Proliferationsaktivität ansehen, da in der Niere jede Zelle im Anschluß an die DNS-Synthese auch eine Zellteilung durchführt. In der Niere existiert somit keine G_2-Population im Sinne Gelfant's (1962-1966), also eine Population von Zellen, die nach der S-Phase in die G_2-Phase eintreten und beliebig lange in ihr verharren. Amitotische Zellteilungen und endomitotische Polyploidisierungen kommen in der Niere ebenfalls nicht vor (HEINE, 1968).

In der gesunden Niere ausgewachsener Ratten finden nur noch vereinzelte Zellteilungen statt, die lediglich dem Ersatz untergegangener Zellen dienen. Dementsprechend fanden wir für die Tubulusepithelien und die Bindegewebszellen in den Nieren gesunder Kontrolltiere sehr niedrige Markierungsindices, und zwar für die Tubulusepithelien Werte, die zwischen 0,2 % (Nierenrinde) und 0,08 % (Innenzone) lagen.

HÜBNER (1967) und HEINE (1968) kommen zu ähnlichen Ergebnissen. HÜBNER (1967) bestimmte bei den gewundenen Hauptstückepithelien der Nierenrinde einen Markierungsindex von 0,2 %. Im Bereich der Sammelrohre fand er dagegen nur einen Markierungsindex von 0,02 %. HEINE (1968) ermittelte nach singulärer ^{3}H-TdR-Injektion für die Tubulusepithelien des Str. labyrinthicum (Rinde) einen L.I. von 0,2 %.

Wir fanden bei den gesunden Kontrolltieren nur geringe Unterschiede in der Höhe des Markierungsindex zwischen Rinde, Außenstreifen und Innenstreifen. Der Markierungsindex der Tubulusepithelien ist in der Rinde am höchsten und nimmt dann bis zur Innenzone kontinuierlich ab.

Dies stimmt ebenfalls mit den Ergebnissen von HÜBNER (1967) und HEINE (1968) überein. HÜBNER (1967) fand die meisten markierten Zellen bei den geraden und gewundenen Hauptstückepithelien der Rinde und des Außenstreifens. HEINE (1968) fand nach 20tägiger ^{3}H-TdR-Dauerinfusion den höchsten Markierungsindex im Str. labyrinthicum (Rinde), darauf folgen Str. subcorticale (Außenstreifen), Zona intermedia (Innenstreifen) und Zona basalis (Innenzone).

Bei den Interstitialzellen gesunder Kontrolltiere ermittelten wir ^{3}H-TdR-Markierungsindices zwischen 0,5 % (Rinde) und 0,2 % (Innenzone). Auch hier ist der Markierungsindex in der Nierenrinde am größten, dann folgen Außenstreifen, Innenstreifen und Innenzone. Zu gleichen Ergebnissen kommen HÜBNER und SELAK (1967). Sie bestimmten bei den Interstitialzellen gesunder Kontrolltiere nach ^{3}H-TdR-Pulsmarkierung Markierungsindices zwischen 0,6 % in der Rinde und 0,2 % im Innenstreifen. Den Markierungsindex der Bindegewebszellen in der Innenzone bestimmten sie nicht. Sie fanden ebenfalls eine Abnahme des Markierungsindex von der Rinde bis zum Innenstreifen.

Wie aus der Beschreibung der Befunde hervorgeht, beobachteten wir bei den Tubulusepithelien und Bindegewebszellen aller operierten Tiere am 1. postoperativen Tag ein Absinken der Markierungsindices unter die Werte gesunder Kontrollen. Diesen initialen postoperativen Abfall der Markierungsindices beobachteten auch NOLTENIUS et al. (1965), HÜBNER (1967) und HEINE (1968) bei ihren Versuchstieren. Er ist wahrscheinlich als Folge des operativen Eingriffs anzusehen. Zusätzlich ist nach einseitiger Nephrektomie mit einer funktionellen Überlastung der Restniere durch die anflutenden harnpflichtigen Substanzen zu rechnen. Dies könnte zu einer initialen Gewebsschädigung in der verbliebenen Niere führen,

die ein sofortiges kompensatorisches Wachstum behindert. Gleichzeitig ist die Anflutung harnpflichtiger Substanzen aber auch als Wachstumsreiz anzusehen, der von den Zellen mit einer 2-3 tägigen Latenzzeit beantwortet wird. Diese Zeit benötigen die Zellen nach Ansicht von HEINE (1975), um aus der Funktionsphase (N_{G_o}) in die Proliferationsphase (N_c) überzugehen.

Diesem initialen Abfall des Markierungsindex folgt bei den Tubulusepithelien der Ratten mit alleiniger Nephrektomie ein erster Markierungsgipfel am 4. Versuchstag. Diesem ersten hohen Markierungsgipfel schließen sich in allen Zonen weitere kleinere Maxima an, und zwar in der Rinde am 7., 12. und 16. Tag, im Außenstreifen am 6. und 8.-10. Tag und im Innenstreifen am 6., 8. und 16. Tag. Die Innenzone nimmt - legt man die autoradiographischen Befunde zugrunde - am kompensatorischen Wachstum so gut wie gar nicht teil. Lediglich am 2. und 7. postoperativen Tag finden sich kleinere Markierungsgipfel. Während der übrigen Versuchszeit liegen die Markierungsindices im Bereich der Kontrollen.

Nach unilateraler Nephrektomie setzt also bei den Tubulusepithelien der verbliebenen Niere ein kompensatorisches Wachstum ein, das nicht gleichmäßig, sondern in rhythmischen Wellen verläuft.

Ein rhythmisches Nierenwachstum nach unilateraler Nephrektomie fanden auch KLINGE (1964), NOLTENIUS et al. (1965), HÜBNER (1967), HEINE, W.-D. (1968), HEINE, H.-D. (1971), HEINE und STÖCKER (1972), STÖCKER et al. (1972) und HEINE (1973).

HÜBNER (1967) fand bei den Tubulusepithelien Markierungsgipfel am 2., 9., 16., 23., 30. und 37. Tag, also in regelmäßigen 7tägigen Abständen. KLINGE (1964) ermittelte bei den Tubulusepithelien aller Nierenzonen Mitosegipfel am 4. und 7. Versuchstag.

Das kompensatorische Wachstum der Tubulusepithelien ist in den ersten Tagen nach Nephrektomie am höchsten und nimmt danach an Intensität allmählich ab. Nach Angaben von HÜBNER (1967) ist das kompensatorische Nierenwachstum nach 20-37 Tagen beendet. Zu diesem Zeitpunkt befanden sich auch die von uns ermittelten Markie-

rungsindices wieder im Bereich der Kontrollwerte, in dem sie dann bis zum Ende des Versuchszeitraums blieben. Bei den Tubulusepithelien der nephrektomierten Ratten fanden wir am 270. Tag erneut einen Markierungsgipfel, für den wir keine Erklärung haben.

Das kompensatorische Nierenwachstum nach unilateraler Nephrektomie läßt sich bei den Tubulusepithelien aller Nierenzonen nachweisen, allerdings in unterschiedlichem Ausmaß.

Nach ^{3}H-TdR-Pulsmarkierung findet sich die höchste Proliferationsaktivität am 4. postoperativen Tag im Innenstreifen, dann folgen Außenstreifen, Nierenrinde und Innenzone.

HEINE (1971) untersuchte das kompensatorische Nierenwachstum nach unilateraler Nephrektomie in den ersten 72 Stunden postoperativ in jeweils 4stündigen Abständen. Bei der Auswertung seiner Diagramme findet man die höchsten Markierungsindices 48-72 Stunden nach unilateraler Nephrektomie in der Zona intermedia (Innenstreifen), gefolgt von Str. subcorticale (Außenstreifen), Str. labyrinthicum (Rinde) und Zona basalis (Innenzone). Diese durch ^{3}H-TdR-Pulsmarkierung gewonnenen Werte bestätigen unsere Ergebnisse.

Dagegen fand HÜBNER (1967) nach ^{3}H-TdR-Pulsmarkierung die größte Anzahl markierter Zellen bei den Epithelien der geraden und gewundenen Hauptstücke und der Tubuli contorti II, also derjenigen Tubulusabschnitte , die überwiegend in der Nierenrinde zu finden sind. Nach den Untersuchungen von HÜBNER (1967) nimmt die Zahl markierter Zellen von der Nierenrinde bis zur Innenzone kontinuierlich ab.

In der Niere sind zwar prinzipiell alle Zellen zur Teilung in der Lage (HEINE, 1973), am kompensatorischen Nierenwachstum nimmt jedoch nur ein bestimmter Anteil der Gesamtzellpopulation tatsächlich teil. Dieser Anteil wird als "growth fraction" bezeichnet. Die übrigen nicht proliferierenden Zellen sind dem Kompartiment der prinzipiell teilungsfähigen aber ruhenden Zellen (N_{G_o}) zuzurechnen.

Der Anteil der Zellen, die tatsächlich an der Proliferation teilnehmen, kann entweder experimentell durch ^{3}H-TdR-Dauerinfusion bzw. durch mehrfache, in kurzen Abständen wiederholte ^{3}H-TdR-Pulsmarkierungen bestimmt werden, oder aber nach der Formel

$$G.F. = \frac{L.I. \times T_c}{T_s}$$ berechnet werden (vgl. S. 44).

Das setzt voraus, daß die Länge der S-Phase (T_s), die Generationszeit (T_c) und der Markierungsindex (L.I.) bekannt sind. Wir haben daher die Größe der Wachstumsfraktion am 4. postoperativen Tag durch wiederholte ^{3}H-TdR-Pulsmarkierungen bestimmt und errechneten zum Vergleich zusätzlich die Wachstumsfraktion nach der o.a. Formel. Bei der experimentellen Bestimmung der Wachstumsfraktion zeigte sich, daß bereits 48 Stunden nach Versuchsbeginn in allen Zonen (Rinde, Außenstreifen, Innenstreifen) ein Sättigungswert erreicht ist, und daß sich die Größe der Wachstumsfraktion auch nach 72stündiger Versuchszeit nicht mehr wesentlich ändert. Wir fanden in Rinde, Außenstreifen und Innenstreifen fast gleich hohe Werte für die G.F. In der Rinde ist die Wachstumsfraktion mit 2,96 % nur geringfügig höher als im Außenstreifen mit 2,88 % und im Innenstreifen mit 2,79 %.

Die nach der o.a. Formel theoretisch errechnete Wachstumsfraktion ist fast genau so hoch wie die experimentell bestimmte (s. Tab. 1). Dies bestätigt die Richtigkeit unserer verschiedenen Zählungen (L.I., G.F., ^{3}H-^{14}C-TdR).

Daß die Wachstumsfraktion in allen Zonen ungefähr gleich hoch ist, bestätigt die Beobachtung von HEINE (1971), wonach das Größenverhältnis der Nierenzonen zueinander in der kompensatorisch wachsenden Niere im Vergleich zur Niere im steady state nicht verändert ist. Das bedeutet, daß sich - bei fast gleich hoher G.F. in den verschiedenen Zonen, jedoch verschieden großem Markierungsindex, z.B. am 4. Tag nach Nephrektomie, - die Zellen in den verschiedenen Nierenzonen durch die Länge ihrer Generationszyklen unterscheiden müssen.

Außer der Größe der Growth fraction bestimmten wir die Dauer des gesamten Zellzyklus und der einzelnen Zellzyklusphasen der Tubulusepithelien in der Restniere am 4. Tag nach kontralateraler Nephrektomie.

Die Länge der S-Phase der Tubulusepithelien in Rinde, Außenstreifen und Innenstreifen ermittelten wir mit Hilfe der Doppelmarkierungsmethode mit ^{14}C-TdR und ^{3}H-TdR. Da das Wachstum der Restniere nach unilateraler Nephrektomie in der Größenordnung zwischen steady state- und exponentiellem Wachstum liegt, berechneten wir die Dauer der DNS-Synthesephase aus den im Doppelmarkierungsverfahren gewonnenen Werten in Anlehnung an ein von LENNARTZ und MAURER (1964) entwickeltes Rechenverfahren.

Die Dauer der S-Phase beträgt in der Rinde 5,3 - 6,0 Stunden, im Außenstreifen 4,3 - 5,0 Stunden und im Innenstreifen 3,4 - 3,9 Stunden. Die Länge der S-Phase in der Innenzone bestimmten wir nicht. Die von uns bestimmten S-Phasen sind deutlich kürzer (um 5 - 6 Stunden) als die S-Phasen, die BAUER (in Vorbereitung) mit Hilfe des Doppelmarkierungsverfahrens für die Niere gesunder Kontrolltiere bestimmte. Er fand für die Rinde eine S-Phasenlänge von 10,5 Stunden, im Außenstreifen dauert T_s 10,2 Stunden und im Innenstreifen 8,4 Stunden. Die gesteigerte Proliferation in der Restniere nach unilateraler Nephrektomie geht nach unseren Untersuchungen mit einer deutlichen verkürzten Dauer der DNS-Synthesephase einher.

Die von uns ermittelten S-Phasenlängen in Rinde, Außenstreifen und Innenstreifen entsprechen am ehesten den S-Phasenlängen, wie sie von WEGENER, HOLLWEG und MAURER (1964) und WEGENER und HOLLWEG (1964) für verschiedene Zellarten in 20 Tage alten Rattenfeten bestimmt wurden. Unter Anwendung des %-markierte-Mitosen-Verfahrens und des Doppelmarkierungsverfahrens ermittelten sie eine durchschnittliche Dauer der S-Phase der Nierenepithelien von 5,5 Stunden. Eine Differenzierung nach Nierenzonen nahmen sie nicht vor.

ALTMANN (1966) und HEINE (1968) fanden bei den Tubulusepithelien der verbliebenen Niere nach unilateraler Nephrektomie mit Hilfe des Prozent-markierte-Mitosen-Verfahrens eine wesentlich längere Dauer der S-Phase als die von uns ermittelte. Nach ihren Untersuchungen dauert die S-Phase der Tubulusepithelien im Mittel 15 Stunden. Eine Unterscheidung zwischen den verschiedenen Nierenzonen nahmen sie nicht vor.

Die gleiche Länge der S-Phase, d.h. 15 Stunden, bestimmten HEINE und STÖCKER (1971) - ebenfalls mit dem Prozent-markierte-Mitosen-Verfahren - für die Tubulusepithelien von Nieren im steady state, also nach Beendigung des Organwachstums. Nach diesen Untersuchungen verkürzt sich die DNS-Synthesephase der Tubulusepithelien nach unilateraler Nephrektomie also nicht.

Die Dauer der S-Phase der Tubulusepithelien im steady state und nach unilateraler Nephrektomie, wie HEINE und STÖCKER (1971) sie bestimmten, wäre mit 15 Stunden fast doppelt so lang wie bei den meisten anderen Zellarten ausgewchsener Tiere, wo sie im Mittel bei 6 - 8 Stunden liegt (SCHULTZE, 1968).

Bei den mit ^{14}C-TdR und ^{3}H-TdR doppelt markierten Autoradiogrammen sahen wir in allen Fällen auch ^{3}H-TdR markierte Mitosen. Die Versuchstiere hatten noch ca. 2 Stunden nach der ersten ^{3}H-TdR-Injektion gelebt. Die Zeitdauer von einer einmaligen ^{3}H-TdR-Injektion bis zum ersten Auftreten markierter Mitosen entspricht der minimalen Dauer von G_2 plus der Anfangsphase der Mitose (HEMPEL, 1968), d.h. bei den Tubulusepithelien nephrektomierter Ratten ermittelten wir in Rinde, Außenstreifen und Innenstreifen für $(T_{G_2} + T_M)_{min}$ eine Zeitdauer von 2 Stunden.

HEINE (1968) bestimmte mit der"Prozent-markierte-Mitosen"-Methode für die Tubulusepithelien nach unilateraler Nephrektomie G_2 mit 3 Stunden und M mit 1,9 Stunden.

Unsere Ergebnisse stimmen gut mit denen überein, die HOLLWEG und MAURER (1964) für die Tubulusepithelien fetaler Ratten bestimmten: Bei Anwendung der"Prozent - markierte-Mitosen"-Methode ermittelten sie für G_2eine Zeit von 1,8 Stunden. Die Mitosedauer bestimmten sie nicht.

Die Dauer des Generationszyklus der Tubulusepithelien nephrektomierter Ratten bestimmten wir nach der von KISIELESKI (1961) angegebenen Formel (s. S. 63), nachdem wir T_s und die Höhe der Wachstumsfraktion experimentell bestimmt hatten.

In der Rinde beträgt die Zellzyklusdauer 23,6 - 27,1 Stunden, im Außenstreifen 11,2 - 12,9 Stunden und im Innenstreifen 5,2 - 6,1 Stunden. Die Dauer des Zellzyklus differiert also erheblich in den verschiedenen Nierenzonen und nimmt von der Rinde bis zum Innenstreifen kontinuierlich ab. Dies spiegelt sich auch in der Kurve der Markierungsindices wieder: Die Markierungsmaxima in der Rinde folgen mit 1 - 2 tägiger Verspätung auf die Maxima im Außenstreifen und Innenstreifen. Dies ist wahrscheinlich Ausdruck des langsamer ablaufenden Zellzyklus in der Nierenrinde.

Vergleichbare Untersuchungen über die Dauer des Zellzyklus bei den Tubulusepithelien nephrektomierter Ratten liegen bisher nicht

vor. HEINE (1968) bestimmte lediglich Teilphasen des Zellzyklus: Für ($T_s + T_{G_2} + T_M$) gab er eine minimale Dauer von 24 Stunden an.

In Kenntnis von T_c, T_s, T_{G_2} und T_M läßt sich leicht T_{G_1} berechnen nach der Formel: $T_{G_1} = T_c - (S + T_{G_2} + T_M)$ (vgl. S. 63). In der Rinde dauert G_1 16,3 - 19,1 Stunden, im Außenstreifen 4,9 - 6,0 Stunden, im Innenstreifen maximal 0,2 Stunden. Einen unteren Grenzwert für G_1 konnten wir auf Grund der sehr kurzen Dauer der Generationszeit im Innenstreifen nicht bestimmen. Möglicherweise treten die Tubulusepithelien des Innenstreifens unter exponentiellen Wachstumsbedingungen aus der Mitose direkt wieder in eine neue DNS-Synthesephase ein, ohne eine G_1-Phase zu durchlaufen, oder aber die Dauer von G_1 ist so kurz, daß sie mit unseren Methoden nicht mehr bestimmbar ist.

Nach EPIFANOVA (1965) und SCHULTZE (1968) ist die G_1-Phase innerhalb des Zellzyklus die Phase mit der größten Schwankungsbreite. Die großen Unterschiede in der Dauer des Generationszyklus zwischen Rinde und Innenstreifen sind in erster Linie durch die grossen Unterschiede von G_1 bedingt. Im Vergleich dazu sind die Unterschiede zwischen den S-Phasen in Rinde, Außenstreifen und Innenstreifen sehr gering.

Große Schwankungen in der Dauer von G_1, die zu erheblichen Unterschieden in der Dauer des Generationszyklus führen, sind auch für andere Zellarten der Ratte beschrieben worden (SCHULTZE, 1968).

Das kompensatorische Nierenwachstum nach unilateraler Nephrektomie erfaßt nicht nur die Tubulusepithelien, sondern auch die Interstitialzellen in Rinde, Außenstreifen und Innenstreifen. Die Interstitialzellen der Innenzone nehmen am kompensatorischen Wachstum nicht teil. Ihre Markierungsindices liegen während des gesamten Versuchszeitraums im Bereich der Kontrollwerte.

Nach einem initialen Absinken des Markierungsindex am 1. postoperativen Tag steigen die Markierungsindices in Rinde, Außenstreifen und Innenstreifen bis zu einem ersten Markierungsgipfel am

4. Tag an. Diesem ersten Maximum folgen, wie bei den Tubulusepithelien, in ca. 2 - 4tägigen Abständen weitere Markierungsgipfel, und zwar in der Rinde am 6., 12. und 18. Tag, im Außenstreifen am 6., 8., 12. und 18. Tag und im Innenstreifen am 7. - 10. und am 14. Tag. Zwischen dem 20. und 30. Tag (Rinde), bzw. dem 30. - 60. Tag (Außenstreifen und Innenstreifen) erreichen die Markierungsindices die Kontrollwerte wieder. Sie bleiben bis zum Ende des Versuchszeitraums im Bereich der Kontrollwerte. Bei den Interstitialzellen der Rinde und des Außenstreifens fanden wir am 270. Tag - wie schon bei den Tubulusepithelien - noch einmal einen Markierungsgipfel, für den wir keine Erklärung gefunden haben. Auch bei den Interstitialzellen verläuft also das kompensatorische Wachstum in rhythmischen Wellen.

Unsere Befunde stimmen weitgehend mit denen von NOLTENIUS et al. (1965) und HÜBNER und SELAK (1967) überein. NOLTENIUS et al. (1965) fanden nach ^{3}H-TdR-Pulsmarkierung Markierungsgipfel am 3. und 8. Tag nach Nephrektomie bei den Interstitialzellen der Rinde und des Marks. Nach ihren Untersuchungen ist das kompensatorische Nierenwachstum nach 10 Tagen bereits beendet.

HÜBNER und SELAK (1967) bestimmten Markierungsgipfel am 2., 4., 9. und 12. Versuchstag in drei Zonen der Niere, wobei Zone I der Nierenrinde, Zone II dem Außenstreifen und Zone III dem Innenstreifen entsprechen. Den Markierungsindex in der Nierenpapille (Innenzone) bestimmten sie nicht.

Übereinstimmend mit unseren Ergebnissen fanden sie den höchsten Markierungsgipfel des Versuchszeitraums in allen Zonen am 4. postoperativen Tag. In der Höhe des Markierungsindex führt Zone I vor Zone II und Zone III. Bei unseren Untersuchungen ermittelten wir ebenfalls den höchsten Markierungsindex - bezogen auf den 4. postoperativen Tag - in der Rinde, gefolgt von Außenstreifen und Innenstreifen.

Die Höhe der Wachstumsfraktion (G.F.) der Interstitialzellen bestimmten wir - wie bei den Tubulusepithelien - am 4. Tag nach Nephrektomie durch wiederholte Pulsmarkierungen mit ^{3}H-TdR. Außer-

dem bestimmten wir die G.F. rechnerisch, nach der Formel von KISIELESKI et al. (1961) (s. S. 45).

Die wiederholten Pulsmarkierungen zur Bestimmung der G.F. führten wir über 24, 48 und 72 Stunden durch. Dabei konnten wir bereits nach 48 Stunden das Einschwenken auf einen Sättigungswert feststellen. Zwischen der Höhe der Wachstumsfraktion nach 48stündiger bzw. nach 72stündiger Versuchszeit bestehen keine wesentlichen Unterschiede.

In Rinde und Außenstreifen ist die Wachstumsfraktion nach 72stündiger Versuchszeit gleich hoch und liegt bei 4,06 bzw. 4,07 %. Die G.F. des Innenstreifens ist etwas niedriger (ca. 3,5 %). Damit bestehen - wie auch bei den Tubulusepithelien - in der Höhe der G.F. keine wesentlichen Unterschiede zwischen den Nierenzonen.

Die in Anlehnung an die Formel von KISIELESKI et al. (1961) (s. S. 45) berechnete G.F. stimmt mit der experimentell bestimmten überein.

Die Länge der S-Phase der Interstitialzellen bestimmten wir - wie bei den Tubulusepithelien - durch Doppelmarkierung mit ^{14}C-TdR und ^{3}H-TdR und anschließender Berechnung nach dem von LENNARTZ und MAURER (1964) entwickelten Rechenverfahren. Wir erhielten einen oberen und unteren Grenzwert für T_s, welcher der S-Phasendauer in steady state und unter exponentiellen Wachstumsbedingungen entspricht. Die S-Phase dauert in der Rinde 4,6 - 5,3 Stunden, im Außenstreifen 3,0 - 3,5 Stunden und im Innenstreifen 2,6 - 3,0 Stunden. Damit dauert die S-Phase bei den Interstitialzellen genauso lange wie bei den Tubulusepithelien und gleicht in der Grössenordnung den S-Phasen, wie sie von WEGENER, HOLLWEG und MAURER (1964) für zahlreiche Zellarten bei Rattenfeten bestimmt wurden.

Die Dauer von $\left(\frac{T_{G_2}}{} + T_M\right)_{min}$ ermittelten wir gleichfalls aus den mit ^{14}C-TdR und ^{3}H-TdR doppeltmarkierten Autoradiogrammen. In allen Autoradiogrammen sahen wir in Rinde, Außenstreifen und Innenstreifen markierte Mitosen der Interstitialzellen. Die Versuchs-

dauer betrug ca. 2 Stunden. Das bedeutet, daß nach zwei Stunden die ersten Zellen die DNS-Synthesephase verlassen und die G_2-Phase durchlaufen haben und in die Mitose eingetreten sind. Damit dauern $(T_{G_2} + T_M)_{min}$ ca. 2 Stunden.

Nach der experimentellen Bestimmung des Markierungsindex, der Wachstumsfraktion und der Länge der S-Phase berechneten wir die Dauer des Generationszyklus der Interstitialzellen in Rinde, Aussenstreifen und Innenstreifen nach der Formel von KISIELESKI et al. (1961). T_c ist in der Rinde mit 10,7 - 12,4 Stunden am längsten. Im Außenstreifen dauert der Generationszyklus 7,8 - 9 Stunden und im Innenstreifen 7,6 - 8,7 Stunden. Wie bei den Tubulusepithelien nimmt die Länge des Generationszyklus von der Rinde bis zum Innenstreifen ab. Die Unterschiede zwischen Rinde, Aussenstreifen und Innenstreifen in der Länge von T_c sind allerdings erheblich kleiner als bei den Tubulusepithelien.

Die kurzen Generationszeiten der Interstitialzellen nach unilateraler Nephrektomie stimmen wiederum am ehesten mit den Generationszeiten verschiedener embryonaler Zellarten der Ratte überein (WEGENER, HOLLWEG und MAURER, 1964).

Die Dauer der G_1-Phase berechneten wir nach folgender Formel: $T_{G_1} = T_c - (T_s + (T_{G_2} + T_M))$. Die Dauer von G_1 liegt zwischen 5,1 Stunden (Rinde) und 3,0 (Innenstreifen). Die Unterschiede zwischen den Nierenzonen sind erheblich kürzer als bei den Tubulusepithelien.

Nach unilateraler Nephrektomie und gleichzeitiger Ductus thoracicus-Blockade findet man in der verbliebenen Niere ebenfalls ein kompensatorisches Organwachstum, das in rhythmischen Wellen verläuft und Tubulusepithelien und Bindegewebszellen aller Nierenzonen - mit Ausnahme der Innenzone - erfaßt. In diesen Punkten unterscheiden sich also kompensatorisches Nierenwachstum ohne und mit den Folgen einer Lymphstase nicht voneinander.

Der Markierungsindex der Tubulusepithelien nephrektomierter Ratten mit gleichzeitiger Ductus thoracicus-Blockade liegt in den

ersten beiden postoperativen Tagen deutlich unter dem Markierungsindex gesunder Kontrolltiere. Erst am 3. Tag beginnt ein allmählicher Anstieg der Markierungsindices in allen Nierenzonen bis zu einem ersten Maximum am 4. Tag. Auf den ersten Markierungsgipfel am 4. Tag folgen in allen Zonen weitere Maxima und zwar in der Rinde am 7., 12., 20. - 30. Tag, im Außenstreifen am 8., 12., 20. Tag und im Innenstreifen am 7., 12., 16., 20. Tag.

Im Innenstreifen und im Außenstreifen werden die höchsten Markierungsgipfel des Versuchszeitraums am 7. bzw. 8. Versuchstag erreicht. In der Rinde ist der Gipfel am 7. Tag fast ebenso hoch wie der Markierungsgipfel am 4. Tag. Die Markierungsindices der Kontrolltiere werden in der Rinde zwischen dem 30. und 60. Tag und im Aussen- und Innenstreifen am 30. Tag erreicht. Danach bleiben die Markierungsindices bis zum Versuchsende im Bereich der Kontrollwerte. Die Tubulusepithelien der Innenzone nehmen am kompensatorischen Wachstum nicht teil. Nimmt man den Markierungsindex des 4. Versuchstages als Bezugspunkt, so führt in der Reihenfolge der Wachstumszonen der Innenstreifen, darauf folgen die Nierenrinde und dann der Außenstreifen.

Die Wachstumsfraktion ist bei den Tubulusepithelien der nephrektomierten Ratten mit gleichzeitiger Ductus thoracicus-Blockade nach 72stündiger Versuchszeit in der Rinde am höchsten, dann folgen der Innenstreifen und schließlich der Außenstreifen. Die rechnerische Ermittlung der Wachstumsfraktion führt zu genau den gleichen Werten wie die experimentelle Bestimmung.

Mit Hilfe des Doppelmarkierungsverfahrens mit ^{14}C-TdR und ^{3}H-TdR und anschließender Berechnung nach der Methode von LENNARTZ und MAURER (1964) ermittelten wir die Länge der S-Phase für die Tubulusepithelien dieser Versuchsgruppe. Die längste Dauer für T_s fanden wir in der Nierenrinde mit 6,3 - 7,2 Stunden. Im Außenstreifen dauert die S-Phase 5,6 - 6,4 Stunden und im Innenstreifen 5,9 - 6,8 Stunden. Damit ist die DNS-Synthesephase in allen drei Zonen etwa gleich lang.

Die minimale Zeitdauer für $(T_{G_2} + T_M)$ beträgt bei den Tubulusepithelien dieser Versuchsgruppe ca. 2 Stunden.

Die Generationszeit der Tubulusepithelien von Rinde und Außenstreifen ist fast gleich und dauert in der Rinde 18,3 - 21,1 Stunden, und im Außenstreifen 18,6 - 21,6 Stunden. Im Innenstreifen beträgt die Länge 14,7 - 17,0 Stunden.

Die G_1-Phase ist im Innenstreifen mit 6,8 - 10,1 Stunden am kürzesten, dann folgen die Rinde mit einer G_1-Dauer von 10,0 - 11,9 Stunden und schließlich der Außenstreifen mit 11,1 - 13,1 Stunden. Die zeitlichen Unterschiede zwischen den Zonen sind also sehr gering.

Bei den Interstitialzellen der Versuchsgruppe mit Nephrektomie und Ductus thoracicus-Blockade fanden wir den ersten Markierungsgipfel bei den gefäßnahen und gefäßfernen Zellen in Rinde, Außen- und Innenstreifen am 4. postoperativen Tag.

Weitere Markierungsgipfel folgen in der Rinde am 6. - 12. Tag und am 20. Tag, im Außenstreifen am 6., 10. und 20. Tag und im Innenstreifen am 8., 12., 16. und 20. Tag.

In der Rinde sind die Markierungsgipfel am 4. und am 6. - 12. Tag gleich hoch. Im Außenstreifen findet man das höchste Markierungsmaximum des Versuchszeitraums am 10. und im Innenstreifen am 8. Versuchstag.

Vergleicht man die Höhe der Markierungsindices am 4. postoperativen Tag, so ist der L.I. in der Rinde am höchsten, dann folgen Außenstreifen und Innenstreifen.

In Rinde, Außenstreifen und Innenstreifen liegen die Markierungsindices der Interstitialzellen ungefähr ab dem 60. Versuchstag wieder im Bereich der Kontrollen. Die Interstitialzellen der Innenzone nehmen am kompensatorischen Wachstum nicht teil. Lediglich am 7. Tag überschreitet der Markierungsindex knapp den Markierungsindex der Kontrolltiere.

Bei den Interstitialzellen der Ratten mit Nephrektomie und Ductus thoracicus-Blockade ist die Wachstumsfraktion nach 72stündiger Versuchszeit im Außenstreifen am höchsten, dann folgen Rinde und Innenstreifen. Die rechnerische Ermittlung der Wachstumsfraktion nach der Formel von KISIELESKI et al. (1961) ergab fast gleich hohe Werte und bestätigt also unsere experimentell gewonnenen Ergebnisse.

Die S-Phase der Interstitialzellen dauert im Außenstreifen 4,3 - 5,0 Stunden. In der Rinde beträgt die Dauer der S-Phase 5,0 - 5,8 Stunden und im Innenstreifen 6,0 - 6,9 Stunden.

Die Zeit für $(T_{G_2} + T_M)_{min}$ beträgt auch bei den Interstitialzellen dieser Versuchsgruppe 2 Stunden.

Die Generationszeit ist im Innenstreifen mit 20,3 - 23,4 Stunden am längsten. Im Außenstreifen dauer T_c 13,7 - 15,8 Stunden und in der Rinde 12,2 - 14,05 Stunden.

Für G_1 errechneten wir in der Nierenrinde eine Dauer von 5,2 - 6,3 Stunden, im Außenstreifen von 7,4 - 10,8 Stunden, und im Innenstreifen von 14,3 - 16,5 Stunden. Die Dauer von G_1 ist in den verschiedenen Zonen also recht unterschiedlich, während die übrigen Teilphasen des Generationszyklus annähernd gleich lang sind in Rinde, Außenstreifen und Innenstreifen.

Beim Vergleich der Markierungsindices fanden wir bei den Ratten mit Nephrektomie und Ductus thoracicus-Blockade in den ersten 6 Versuchstagen einen deutlich niedrigeren Markierungsindex in Rinde, Außenstreifen und Innenstreifen als bei den Ratten mit alleiniger Nephrektomie.

In den beiden Versuchsgruppen nehmen die Tubulusepithelien und die Interstitialzellen der Innenzone am kompensatorischen Wachstum nicht teil.

Die Unterschiede in der Höhe der Markierungsindices zwischen den beiden Versuchsgruppen sind am 4. postoperativen Tag im Außen-

und Innenstreifen der Niere am deutlichsten sichtbar: Während bei Ratten mit alleiniger Nephrektomie am 4. postoperativen Tag in Außenstreifen und Innenstreifen eine 7 - 12fache Steigerung des ^{3}H-TdR-Markierungsindex im Vergleich zu gesunden Kontrolltieren zu beobachten ist, beträgt die Steigerungsrate bei den Tieren mit Nephrektomie und Ductus thoracicus-Blockade nur das 2 - 4fache.

In der Rinde fanden wir nur einen vergleichsweise geringen Unterschied zwischen den Versuchsgruppen: Bei den nephrektomierten Ratten ohne Ductus thoracicus-Blockade war der ^{3}H-TdR-Einbau am 4. Versuchstag 3x höher und bei den Versuchstieren mit Nephrektomie und Ductus thoracicus-Blockade 2,5x höher als bei den gesunden Kontrolltieren.

Bei den nephrektomierten Ratten ohne Ductus thoracicus-Blockade fanden wir den höchsten Markierungsgipfel am 4. Versuchstag. Bei den Ratten mit Blockade des Ductus thoracicus ist der Markierungsgipfel am 4. Versuchstag vergleichsweise klein und wird im Aussenstreifen und Innenstreifen in der Höhe übertroffen von dem darauffolgenden Markierungsmaximum am 7. bzw. 8. Tag. In der Rinde sind die Markierungsgipfel bei den nephrektomierten Ratten mit Ductus thoracicus-Blockade am 4. und 7. Versuchstag etwa gleich hoch.

Ungefähr ab dem 7. Versuchstag bestehen zwischen den beiden Versuchsgruppen in der Höhe der ^{3}H-TdR-Markierungsindices keine Unterschiede mehr.

Den letzten Markierungsgipfel sieht man bei den Ratten ohne Ductus thoracicus-Blockade am 16. - 18. Versuchstag, bei den Tieren mit Blockade des Ductus thoracicus jedoch erst am 20. Tag. In dieser Versuchsgruppe werden die Markierungsindices der Kontrolltiere außerdem erst zwischen dem 30. und 60. Tag wieder erreicht, während die Markierungsindices bei den Ratten ohne Ductus thoracicus-Blockade bereits zwischen dem 20. und 30. Tag in den Kontrollbereich zurückgekehrt sind. Im Langzeitversuch konnten wir keine Unterschiede in der Höhe der Markierungsindices zwischen

den Versuchsgruppen feststellen.

Ferner fällt bei den Tieren mit Nephrektomie und Ductus thoracicus-Blockade beim Vergleich der Markierungsgipfel in den verschiedenen Nierenzonen eine relativ große zeitliche Synchronisation auf: Während bei den Tubulusepithelien der Ratten mit alleiniger Nephrektomie die Markierungsgipfel in der Nierenrinde mit 1 - 2 tägigen Abständen auf diejenigen im Außenstreifen und Innenstreifen folgen, findet man bei den Ratten mit gleichzeitiger Ductus thoracicus-Blockade die Markierungsmaxima in den verschiedenen Nierenzonen an den gleichen Tagen.

Der verzögerte Kurvenanstieg während der ersten Versuchstage, die niedrigen Markierungsindices, die verspätete Rückkehr zu den Kontrollwerten und die Verlängerung der Zellzyklusphasen bei den Ratten mit Nephrektomie und gleichzeitiger Ductus thoraciucus-Blokkade sind nach unserer Meinung als Folgen einer Lymphstase anzusehen. Die Auswirkungen der Lymphstase sind im Außen- und Innenstreifen des Nierenmarks am deutlichsten nachweisbar.

Unsere Befunde werden gestützt durch die licht- und elektronenmikroskopischen Untersuchungen von HUTH (1968) und CREMER und MÜLLER (1972) über die Folgen einer Lymphstauung an der Niere.

Diese Untersucher fanden bereits wenige Stunden nach Unterbindung der Lymphgefäße am Nierenstiel bzw. nach Ductus thoracicus-Blokkade ein rasch aufschießendes interstitielles Ödem, welches im Außen- und Innenstreifen des Marks am ausgeprägtesten war. Im Rindenbereich war das interstitielle Ödem dagegen vergleichsweise gering und in der Markpapille ist es so gut wie gar nicht nachweisbar.

Auf das interstitielle Ödem folgt nach wenigen Tagen ein Zellödem, das wiederum fast alle Zellen des Innen- und Außenstreifens erfaßt, in den Tubulusepithelien der proximalen und distalen Hauptstücke in der Rinde hingegen nur wenig sichtbar ist.

Somit fanden sich auch licht- und elektronenmikroskopisch nach

einer Lymphstauung die stärksten Veränderungen in denjenigen Nierenzonen, die auch bei unseren Untersuchungen die ausgeprägteste Hemmung des ^{3}H-TdR-Einbaus in die DNS und damit die größte Abnahme des Markierungsindex zeigten.

Die funktionellen Folgen einer Lymphstauung in der Niere, nämlich die Abnahme des Konzentrationsvermögens und die Zunahme des Harnvolumens um das Doppelte, belegen ebenfalls eine Schädigung der Tubulusepithelien des Außen- und Innenstreifens durch das Lymphödem.

Wie die licht- und elektronenmikroskopischen Untersuchungen von HUTH (1968) und CREMER und MÜLLER (1972) und unsere autoradiographischen Befunde ergeben, sind die Folgen einer Lymphstase in der Nierenrinde nur relativ gering ausgeprägt. Die Lymphgefäße der Nierenrinde verlaufen im paravasalen Gewebe, das die Aa. interlobularia umgibt, und das in Verbindung steht mit dem interstitiellen Bindegewebe zwischen den Tubuli.

Dieses paravasale Gewebe ist in den ersten 10 Tagen nach Ductus thoracicus-Blockade erheblich aufgeweitet (CREMER und MÜLLER, 1972). Nach der Definition von OTTAVIANI (1959) zählt das paravasale Bindegewebe der Nierenrinde zum paralymphatischen System, das immer dann vikariierend durchströmt wird, wenn die Transportkapazität des Lymphgefäßsystems überfordert wird oder wenn eine Lymphabflußblockade besteht. Das paravasale Gewebe stellt somit eine Reservekapazität dar, durch die die Folgen einer Lymphstase auf die Tubulusepithelien und Bindegewebszellen der Nierenrinde verringert werden.

Bei länger bestehender Lymphabflußblockade verhindert die große Regenerationsfähigkeit des lymphatischen Systems die Erzeugung eines chronischen Lymphödems (FÖLDI, 1972).

Zusätzlich kommt es nach einer Lymphabflußblockade zur Ausbildung lymphatico-venöser Anastomosen. Solche Kurzschlüsse zwischen dem venösen und dem lymphatischen System wurden 7 - 21 Tage nach

Ductus thoracicus-Blockade z.B. im Iliolumbarbereich, im Bereich der Nierenvenen, der V. cava inferior und der V. azygos nachgewiesen (JOB, 1918; THREEFOOT, 1968; MALÊK, 1972).

CREMER und MÜLLER (1972) postulieren außerdem die Ausbildung lymphphatico-tubulärer Fisteln, insbesondere im Bereich der äußeren Markzone, die die Erzeugung eines chronischen Lymphödems verhindern.

Bei unseren Untersuchungen werteten wir die Markierungsindices der Bindegewebs- und Tubuluszellen getrennt nach ihrer gefäßnahen bzw. gefäßfernen Lage aus. Wir gingen dabei von dem Verlauf des Lymphgefäßsystems in der Niere aus, wie es von KRIZ und DIETRICH (1970) beschrieben wurde. Nach deren Untersuchungen schieben sich die Lymphgefäße im paravasalen Bindegewebe als sogenannte "Drainagestraßen" von der Mark-Rinden-Grenze aus in die Rinde vor. Dazwischen bestehen lymphgefäßfreie Räume, die "Wasserscheiden". Die dort gebildete interstitielle Flüssigkeit fließt in einem ständigen Sickervorgang in Richtung auf die "Drainagestraßen" ab und wird hier von den Lymphkapillaren aufgenommen. Das gleiche Modell übernahmen wir auch für das Nierenmark, obwohl die Existenz von Lymphkapillaren dort nicht endgültig bewiesen ist.

Bei einer Lymphstase wären unseres Erachtens daher die geringsten Auswirkungen eines Lymphödems in den sogenannten "Wasserscheiden" zu erwarten, also im gefäßfernen Bereich. In unseren Untersuchungen fanden wir jedoch keinen deutlichen Unterschied in der Höhe der Markierungsindices zwischen gefäßnahen Zellen im unmittelbaren Bereich der Drainagestraßen und gefäßfernen Zellen im Bereich der "Wasserscheiden". Das durch die Ductus thoracicus-Blockade verursachte interstitielle und intrazelluläre Ödem beeinträchtigt also die Proliferationsaktivität gefäßnaher und gefäßferner Zellen gleichermaßen.

Der niedrigere Markierungsindex bei Ratten mit Nephrektomie und Ductus thoracicus-Blockade kann grundsätzlich durch verschiedene Mechanismen verursacht sein.

Wie auf S.36 dargelegt, kann eine Verminderung des Markierungsindex u.a. durch eine Abnahme der Wachstumsfraktion bedingt sein. Dabei nimmt die Zahl der proliferierenden Zellen (N_c) zugunsten der Zahl der proliferationsfähigen aber ruhenden Zellen (N_{G_0}) ab. Ein Teil der Zellen scheidet also aus dem Proliferationspool aus.

Bei den nephrektomierten Versuchstieren mit gleichzeitiger Lymphabflußblockade war die Wachstumsfraktion sowohl bei den Tubulusepithelien als auch bei den Interstitialzellen in Rinde, Außenstreifen und Innenstreifen um ca. 50 - 60 % niedriger als bei den nephrektomierten Versuchstieren ohne Ductus thoracicus-Blockade.

Die Abnahme des Markierungsindex bei den nephrektomierten Ratten, bei denen gleichzeitig der Ductus thoracicus unterbunden war, ist also wesentlich durch eine verringerte Wachstumsfraktion mitbedingt.

Eine Verminderung der Wachstumsfraktion unter den Bedingungen der Lymphstase wurde auch von OTTE (in Vorbereitung) für die Kryptenepithelien des Dünndarms beschrieben.

Dabei stellt sich die Frage nach dem Verbleib der aus dem Proliferationspool ausscheidenden Zellen. Ein Teil dieser Zellen könnte nach OTTE in der G_1-Phase des Zellzyklus festgehalten werden. Der größere Teil dieser Zellen wird jedoch vermutlich in die G_o-Phase übertreten.

Als weitere Erklärung für einen verringerten Markierungsindex bei den Ratten mit Nephrektomie und Ductus thoracicus-Blockade kommt auch eine Verlängerung einer oder mehrerer Teilphasen des Generationszyklus, und damit eine verlängerte Gesamtzykluszeit in Betracht. Dies könnte z.B. dazu führen, daß eine Zelle nicht mehr alle 10 Stunden einen vollständigen Zellzyklus durchläuft, sondern nur noch alle 15 Stunden, wodurch sich das kompensatorische Wachstum erheblich verlangsamen würde.

Wir bestimmten bei den Tubulusepithelien und den Interstitialzellen beider Versuchsgruppen die Länge der S-Phase, die Dauer von

$(T_{G_2} + T_M)_{min}$, die Länge der G_1-Phase und die Dauer des Generationszyklus.

Unter den Bedingungen der Lymphstase verlängert sich die S-Phase der Tubulusepithelien in der Nierenrinde um ca. 1 Stunde, im Aussenstreifen um ca. 1,5 Stunden und im Innenstreifen um ca. 2, 5 - 3,0 Stunden.

Die Dauer von $(T_{G_2} + T_M)_{min}$ ist bei den Tubulusepithelien beider Versuchsgruppen gleich.

Dagegen fanden wir große Veränderungen für die Länge der G_1-Phase: Bei den Tubulusepithelien der Nierenrinde hat sich die G_1-Phase unter den Bedingungen der Lymphstase um 5 - 6 Stunden verkürzt. Im Außenstreifen wird G_1 dagegen um 6 - 7 Stunden und im Innenstreifen um 7 - 10 Stunden länger.

Durch die Veränderungen in der Dauer der einzelnen Zellzyklusphasen bei den Tubulusepithelien der nephrektomierten Ratten mit Ductus thoracicus-Blockade ändert sich auch die Länge des gesamten Generationszyklus. Im Vergleich zur Versuchsgruppe ohne Lymphabflußblockade ist der Generationszyklus der Tubulusepithelien in der Nierenrinde um ca. 5 - 6 Stunden kürzer geworden. Im Aussenstreifen und im Innenstreifen hat sich der Generationszyklus dagegen verlängert, und zwar im Außenstreifen um 7 - 9 Stunden und im Innenstreifen um 9 - 10 Stunden.

Im Außen- und im Innenstreifen der Niere, wo auch licht- und elektronenmikroskopisch die Folgen der Lymphstase am deutlichsten sichtbar waren (HUTH, 1968; CREMER und MÜLLER, 1972), kommt es als Folge des Lymphstaus also zu einer Verlängerung der S-Phase und damit zu einem verzögerten Ablauf des gesamten Generationszyklus.

Eine Verlängerung des Generationszyklus führt - wie auf S. 36 dargelegt - zu einer Erniedrigung des Markierungsindex. Somit ist die Abnahme des Markierungsindex bei den Tubulusepithelien des

Außen- und Innenstreifens der Nieren nephrektomierter Ratten mit gleichzeitiger Ductus thoracicus-Blockade außer durch eine Abnahme der Wachstumsfraktion auch durch eine Verlängerung des Generationszyklus mitverursacht.

Bei den Tubulusepithelien in der Nierenrinde müßte die Verkürzung des Generationszyklus unter den Bedingungen der Lymphstase eigentlich zu einem Anstieg des Markierungsindex geführt haben. Wir fanden jedoch einen Markierungsindex, der etwas niedriger ist als derjenige der Tubulusepithelien in der Versuchsgruppe ohne Ductus thoracicus-Blockade. Die Abnahme der Wachstumsfraktion um ca. 50 % in der Nierenrinde hat offensichtlich dazu geführt, daß der Markierungsindex nicht angestiegen sondern nahezu genauso hoch geblieben ist wie bei den Tubulusepithelien der Versuchsgruppe ohne Ductus thoracicus-Blockade.

Bei den Tubulusepithelien nephrektomierter Ratten ohne Ductus thoracicus-Blockade fanden wir erhebliche Unterschiede in der Dauer des Generationszyklus zwischen den einzelnen Nierenzonen. So dauert der Generationszyklus in der Nierenrinde mit 23,6 - 27,1 Stunden ca. 4x länger als im Innenstreifen, wo wir eine Zyklusdauer zwischen 5,3 - 6,0 Stunden ermittelten.

Diese unterschiedliche Dauer des Generationszyklus spiegelt sich auch in der Kurve der ^{3}H-TdR-Markierungsindices wieder. In der Nierenrinde, bei den Zellen mit der längsten Generationszeit, folgen die Markierungsmaxima mit 1 - 2tägiger Verspätung auf die Markierungsmaxima im Innenstreifen. In der Rinde kehrt der Markierungsindex am Ende der Wachstumsphase auch langsamer zu den Kontrollwerten zurück.

Bei den Ratten mit Ductus thoracicus-Blockade haben sich die Generationszeiten der einzelnen Nierenzonen weitgehend angeglichen. Dies zeigt sich auch in der Kurve der ^{3}H-TdR-Markierungsindices: In Rinde, Außen- und Innenstreifen findet man die Wachstumsgipfel jetzt überwiegend an den gleichen Versuchstagen.

Zusammenfassend ergibt sich für die Tubulusepithelien, daß eine Erniedrigung des Markierungsindex bei den Ratten mit Nephrektomie und Ductus thoracicus-Blockade - insbesondere im Außen- und Innenstreifen der Niere - sowohl durch eine erniedrigte Wachstumsfraktion als auch durch eine Verlängerung des Zellzyklus mitverursacht wird. Dabei ist die Zellzyklusverlängerung zum kleineren Teil durch eine Verlängerung der DNS-Synthesephase, zum weitaus größeren Teil jedoch durch eine Verlängerung der G_1-Phase bedingt.

Eine Verlängerung der DNS-Synthesephase und der G_1-Phase des Zellzyklus unter den Bedingungen der Lymphstase wurde ebenfalls von OTTE (in Vorbereitung) am Dünndarmepithel von Ratten beobachtet.

Daß es in der Niere nach künstlich gesetzten Wachstumsreizen zu einer Änderung in der Länge des Generationszyklus kommen kann, ist aus Untersuchungen von HEINE und STÖCKER (1971; 1972) bekannt. Sie fanden nach 2/3-Nephrektomie und nach temporärer Ischämie der Niere einen doppelt so schnellen Proliferationsmodus wie unter steady state-Bedingungen.

Bei den Interstitialzellen der nephrektomierten Ratten mit Ductus thoracicus-Blockade hat sich die S-Phase im Vergleich zur Versuchsgruppe ohne Lymphstase in allen drei Nierenzonen verlängert, und zwar in der Rinde ca. um 0,5 Stunden, im Außenstreifen ca. um 3,5 - 4,0 Stunden und im Innenstreifen ca. um 3,5 - 4,0 Stunden.

Die Länge von $(T_{G_2} + T_M)_{min}$ ist in beiden Versuchsgruppen gleich.

Die G_1-Phase ist dagegen - genau wie die S-Phase - in der Versuchsgruppe mit Ductus thoracicus-Blockade länger als in der Gruppe ohne Lymphstase. In der Rinde beträgt die Verlängerung ca. 1 - 1,5 Stunden, im Außenstreifen 4,5 - 6,5 Stunden und im Innenstreifen 11,0 - 13,0 Stunden.

Die Verlängerung der S-Phase und der G_1-Phase führt bei den Interstitialzellen nephrektomierter Ratten mit gleichzeitiger Ductus thoracicus-Blockade zu einer Verlängerung des Generations-

zyklus, die in der Rinde 2,0 Stunden, im Außenstreifen 6 - 7 Stunden und im Innenstreifen 13 - 15 Stunden beträgt.

Wie auf S.36 dargelegt, führt die Verlängerung des Generationszyklus in Rinde, Außenstreifen und Innenstreifen dazu, daß der Markierungsindex in allen drei Zonen kleiner wird.

Somit ist für die Abnahme des Markierungsindex der Interstitialzellen bei den Ratten mit Nephrektomie und Ductus thoracicus-Blockade neben einer Verminderung der Wachstumsrate eine Verlängerung des Generationszyklus ursächlich in Betracht zu ziehen.

Damit stellt sich die Frage nach der klinischen Bedeutung der Befunde:

Ein intraparenchymatöses Lymphödem der Niere wurde bisher lediglich tierexperimentell nach Ligatur der Lymphgefäße am Nierenhilus (HUTH, 1968) oder nach Ductus thoracicus-Blockade (CREMER und MÜLLER, 1972) näher untersucht. Denkbar wäre sein Vorkommen jedoch auch als Folge von fibrosierenden Prozessen im Nierenhilus, z.B. bei der retroperitonealen Fibrose (M.ORMOND), und nach Nierentransplantation. Bei der Nierentransplantation werden zwar die Blutgefäße zwischen Transplantat und Empfängerorganismus anastomosiert, nicht jedoch die Lymphgefäße.

Ein behinderter Lymphabfluß aus der Niere führt - wie die tierexperimentellen Untersuchungen zeigen - zu einem intrazellulären und interstitiellen Lymphödem. Als Folge dieses Ödems muß z.B. bei einer Transplantatniere auf dem Boden der durch die Lymphstase veränderten zellkinetischen Parameter mit einem verminderten kompensatorischen bzw. regeneratorischen Organwachstum gerechnet werden.

6. Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit werden mit histoautoradiographischen Methoden das kompensatorische Nierenwachstum nach kontralateraler Nephrektomie mit und ohne Lymphstase, die Dauer des Generationszyklus, seiner Teilphasen (unter Verwendung des PLM-Verfahrens, bzw. der ^{14}C-^{3}H-TdR Doppelmarkierung) sowie die Größe der Wachstumsfraktion der Tubulusepithelien und Bindegewebszellen untersucht.

Für die Tubulusepithelien der nephrektomierten Ratten ohne Ductus thoracicus-Blockade gelangen wir zu folgenden Ergebnissen:

Das kompensatorische Nierenwachstum verläuft in Rinde, Außenstreifen und Innenstreifen in rhythmischen Schüben. Es ist um den 30.p.op. Versuchstag beendet. Die Innenzone beteiligt sich kaum am kompensatorischen Nierenwachstum.

Die Proliferationsaktivität ist in den verschiedenen Nierenzonen und an den einzelnen Versuchstagen unterschiedlich groß. Der Markierungsindex ist im Innenstreifen am höchsten, es folgen Außenstreifen, Rinde und Innenzone. Den höchsten Markierungsgipfel fanden wir in allen Zonen am 4.p.op. Versuchstag.

Die Größe der Wachstumsfraktion beträgt in Rinde, Aussenstreifen und Innenstreifen am 4.p.op. Versuchstag ca. 3 %.

Die S-Phase dauert am 4.p.op. Versuchstag in der Rinde am längsten (5,3 bis 6,0 Stunden), sie ist im Außenstreifen etwas kürzer (4,3 bis 5,0 Stunden) und am kürzesten im Innenstreifen (3,4 bis 3,9 Stunden). Für die Dauer von $(G_2 + M)_{min}$ ermittelten wir am 4.p.op. Ver-

suchstag in allen drei Zonen einen Zeitraum von ca. 2 Stunden. Die G_1-Phase dauert in der Rinde 16,3 bis 19,1 Stunden, im Außenstreifen 4,9 bis 6 Stunden und im Innenstreifen weniger als 1 Stunde.

Bei den Tubulusepithelien der nephrektomierten Ratten mit gleichzeitiger Ductus thoracicus-Blockade ergibt sich folgendes Bild:

In Rinde, Außenstreifen und Innenstreifen findet sich ein kompensatorisches Wachstum, welches in rhythmischen Schüben verläuft. Dieses Wachstum ist in Außen- und Innenstreifen zwischen dem 20. und 30. Tag und in der Rinde zwischen dem 30. und 60. Versuchstag beendet. Die Innenzone beteiligt sich nicht wesentlich am kompensatorischen Nierenwachstum.

Die Proliferationsaktivität ist in den verschiedenen Zonen und an den einzelnen Versuchstagen unterschiedlich hoch. Am 4.p.op. Versuchstag ist der Markierungsindex in Rinde und Außenstreifen etwa gleich hoch, während er im Innenstreifen etwas darunter liegt. Den höchsten Markierungsindex des Versuchszeitraumes ermittelten wir in der Rinde am 4.p.op. Versuchstag, im Außenstreifen am 8.p.op. Versuchstag und im Innenstreifen am 7.p.op. Versuchstag.

Die Wachstumsfraktion liegt am 4. Versuchstag in allen Nierenzonen bei ca. 1,5 %.

Die S-Phase dauert am 4.p.op. Versuchstag in der Rinde am längsten (6,3 bis 7,2 Stunden). Sie ist im Außenstreifen etwas kürzer (5,6 bis 6,4 Stunden) und am kürzesten im Innenstreifen (5,9 bis 6,9 Stunden). Die Länge von $(G_2 + M)_{min}$ beträgt am 4.p.op. Versuchstag einheitlich in allen 3 Zonen etwa 2 Stunden. Die Dauer von G_1 ist am 4.p.op. Versuchstag in Rinde und Außenstreifen fast gleich groß (ca. 10 bis 13 Stunden), sie beträgt

im Innenstreifen 6 bis 6,9 Stunden.

Für die Interstitialzellen der nephrektomierten Ratten ohne Ductus thoracicus-Blockade ergeben sich folgende Befunde:

Die Interstitialzellen in Rinde, Außenstreifen und Innenstreifen zeigen ein kompensatorisches Wachstum, welches in rhythmischen Schüben verläuft. Es ist in der Rinde am 20.P•op. Tag, im Außenstreifen am 30.P•op. Tag und im Innenstreifen am 60.p•op. Tag beendet. Die Innenzone beteiligt sich nicht am kompensatorischen Wachstum.

Die Proliferationsaktivität ist in den verschiedenen Zonen und an den einzelnen Versuchstagen unterschiedlich hoch. Der Markierungsindex ist in der Rinde am höchsten, dann folgen Außenstreifen, Innenstreifen und Innenzone. Den höchsten Markierungsindex ermittelten wir in allen Zonen am 4.P•op. Versuchstag.

Die Größe der Wachstumsfraktion beträgt am 4.p.op. Tag in Rinde und Außenstreifen ca. 4 %, im Innenstreifen ca. 3,5 %.

Die S-Phase dauert am 4.p.op. Versuchstag in der Rinde am längsten (4,6 bis 5,3 Stunden). Im Außenstreifen beträgt die Dauer 3,0 bis 3,5 Stunden und im Innenstreifen 2,6 bis 3,0 Stunden. Für die Dauer von $(G_2 + M)_{min}$ ermittelten wir in allen Zonen am 4.p.op. Tag einen Zeitraum von 2 Stunden. Die G_1-Phase dauert in der Rinde 4,2 bis 5,1 Stunden, im Außenstreifen 2,8 bis 3,6 Stunden und im Innenstreifen 3,0 bis 3,7 Stunden.

Bei den Interstitialzellen der nephrektomierten Ratten mit Ductus thoracicus-Blockade gelangten wir zu folgenden Ergebnissen:

Ein kompensatorisches Nierenwachstum findet in Rinde, Außenstreifen und Innenstreifen statt. Es ist in der

Rinde am 20.p.op. Tag, im Außenstreifen am 30.p.op. Tag und im Innenstreifen am 60.p.op. Tag beendet. Die Innenzone beteiligt sich nicht am kompensatorischen Wachstum.

Die Proliferationsaktivität ist in den einzelnen Nierenzonen und an den verschiedenen Versuchstagen unterschiedlich hoch. Am 4.p.op. Versuchstag ist der Markierungsindex in der Rinde am höchsten, dann folgen Innenstreifen und Außenstreifen. Den höchsten Markierungsindex des Versuchszeitraums ermittelten wir in der Rinde am 7.P.op. Versuchstag, im Außenstreifen am 10.p.op. Versuchstag und im Innenstreifen am 8.p.op. Versuchstag.

Die Höhe der Wachstumsfraktion liegt am 4.p.op. Tag in allen Nierenzonen bei ca. 2 %.

Die S-Phase dauert am 4.p.op. Tag im Innenstreifen am längsten (6,0 bis 7,9 Stunden). In der Rinde ist sie etwas kürzer (5,0 bis 5,8 Stunden) und am kürzesten im Außenstreifen (4,3 bis 5,0 Stunden). Die Länge von $(G_2 + M)_{min}$ beträgt am 4.p.op. Versuchstag einheitlich in allen Zonen etwa 2 Stunden. Die G_1-Phase dauert in der Rinde 5,2 bis 6,3 Stunden, im Außenstreifen 7,4 bis 10,8 Stunden und im Innenstreifen 14,3 bis 16,5 Stunden.

Wie aus der Beschreibung der Befunde hervorgeht, bewirkt die Lymphstase eine Reduzierung der ^{3}H-TdR-Markierungsindices insbesondere im Außenstreifen und im Innenstreifen der Niere. Diese Reduzierung der ^{3}H-TdR-Markierungsindices bei den Ratten mit Nephrektomie und Ductus thoracicus-Blockade im Vergleich zu den nephrektomierten Ratten ohne gleichzeitige Ductus thoracicus-Blockade ist sowohl auf eine Abnahme der Wachstumsfraktion als auch auf eine Verlängerung des Generationszyklus zurückzuführen.

Folge dieser Reduzierung der ^{3}H-TdR-Markierungsindices bei den nephrektomierten und Ductus thoracicus-blockierten Tieren ist u. a., daß die letzten Markierungsgipfel erst am 20.p.op. Tag auf-

treten, und daß sie bei den ausschließlich nephrektomierten Ratten zwischen dem 16. und 18. Tag auftreten. Außerdem kehren die Markierungsindices der nephrektomierten und Ductus thoracicus blockierten Tiere später zu den Werten der Kontrolltiere zurück. Mit Heine (1973) sind wir der Meinung, daß die Wachstumsfraktion nach kontralateraler Nephrektomie keine statische Größe ist, sondern zufällig von der Zahl der Zellen bestimmt wird, welche pro Zeiteinheit aus der G_o-Phase in die G_1 übertreten.

Literaturverzeichnis

AKISADA, M.; M. GEORGI: Lymphographische Untersuchungen bei operativen Blockaden am Lymphsystem der Ratte. Fortschr. Geb. Roentgenstr. Nuklearmed. 112, 813-818 (1970).

ALLEN, L.: Abdominal lymphatico-venous communications as species characteristics and anomalies. Progress in Lymphology II, S. 70-74. Hersg.: Viamonte,M.; P.R. Koehler; M. Witte; Ch. Witte. G. Thieme, Stuttgart, 1972.

ALTMANN, H.W.: Der Zellersatz, insbesondere an den parenchymatösen Organen. Verh. Dtsch.Ges.Path. 50, 15-53 (1966)

AMLACHER, E.: Autoradiographie in Histologie und Cytologie. G. Fischer, Stuttgart, 1974.

ANDREEFF, M.: Zellkinetik des Tumorwachstums. Thieme Copythek. G. Thieme, Stuttgart, 1977.

APPLETON, T.C.; S.R. PELC; H.M. TARBIT: Formation and loss of DNA in intestinal epithelium. J. Cell Sci. 5, 45 (1969).

AZARGOSCHASB, K.: Ductus thoracicus und Ductus thoracicus-Lymphe der Ratte. Z.ges. experim. Med. 137, 541-553 (1963).

BABICS, A.; F. RÊNYI-VÁMOS: Über den Lymphkreislauf der Niere und dessen Bedeutung für einzelne pathologische Prozesse der Niere. Z. Urol. 48, 618-643 (1955).

BASERGA, R.; MALAMUD, D.: DNA-synthesis and the cell cycle. Modern methods in experimental pathology. Autoradiography 6, 146-180 (1970).

BAUER, P.CH.: Autoradiographische Untersuchungen an der Rattenniere nach Thermokoagulation des Ductus thoracicus. Med. Diss., Bonn (in Vorbereitung).

BELÁN, A.; P. MALÊK; J. KOLE: Röntgenkinematographischer Nachweis lymphovenöser Verbindungen im Versuch in vivo. Röfo 99, 2, 168-172 (1963).

BENNET, H.S.; J.H. LUFT; J.C. HAMPTON: Morphological classifications of vertebrate blood capillaries. Am. J. Physiol. 196, 381-390 (1959).

BIZZOZERO, G.: Accrescimento e rigenerazione nell 'organismo. Arch. Sci. Med. 18 (1893).

BIZZOZERO, G.: An adress on growth and regeneration of the organism. Brit. med. J. 1, 728-732 (1894).

BLEECKEN, S.: Untersuchung des autoradiographischen Auflösungsvermögens mit Strahlenquellen verschiedener Betaenergien. Atompraxis, 7, 321-325 (1961).

BÜCHNER, TH.: Entzündungs z ellen im Blut und im Gewebe. Veröffentlichungen aus der morphologischen Pathologie. G. Fischer, Stuttgart, 1971.

CASLEY-SMITH, J.R.: How the lymphatic system works. Lymphology 1, 77-80 (1968).

CASLEY-SMITH, J.R.: The structure of normal large lymphatics: How this determines their permeabilities and their ability to transport lymph. Lymphology 1, 15-25 (1969).

CHAPMAN-ANDRESEN, C.: Thin films for application between emulsion and isotope-containing specimen in autoradiography. C.R. Lab. Carlsberg, Sér. Chim. 28, 529-540 (1953).

CLARK, R.L.; J.T. CUTTING: Microradiographic studies of renal lymphatics. Radiology, 124, 307-311 (1977).

CLEAVER, J.E.: Thymidine metabolism and cell kinetics. North Holland Publishing Company, Amsterdam, 1967.

COCKETT, A.T.K.: Lymphatic network of the kidney. I. Anatomic and physiologic considerations. Urology, 9 (2), 125-129 (1977).

COCKETT, A.T.K.; A.P. ROBERTS; S. MOORE: Two intrarenal lymphatic networks demonstrated by dye injection of capsular lymphatics. In: Progress in Lymphology II, 166-167. Hersg.: Viamonte,M.; P.R.Koehler; M.Witte; Ch.Witte. G. Thieme, Stuttgart, 1970.

COURTICE, F.C.: Lymph and plasma proteins: barriers to their movement throughout the extracellular fluid. Lymphology, 1, 9-17 (1971).

COURTICE, F.C.: The chemistry of lymph. Handbuch der allgemeinen Pathologie, Bd. III/6, 311-353, Springer, Berlin/Heidelberg/New York, 1972.

CREMER, H.; N. MÜLLER: Lichtmikroskopische Untersuchungen an Nieren sowie lipidchemische Untersuchungen im Serum nach Unterbindung des Ductus thoracicus bei Ratten. Virchows Arch. Abt. A, Path. Anat., 357, 67-79 (1972).

CREMER, H.; N. MÜLLER: Morphologische Veränderungen an der Rattenaorta nach experimenteller Ligatur des Ductus thoracicus. Virchows Arch. Abt. A, Path. Anat., 359, 223-229 (1973).

CREMER, H.; N. MÜLLER: Histological findings in the aorta of rats after experimental ligature of the thoracic duct. Folia Angiologica Vol. XXI, 9/10, 270-273 (1973).

CREMER, H.; N. MÜLLER: Lymphostatische Krankheitsbilder. Folia Angiologica, Vol. XXIII, 3/4, 72-84 (1975).

CREMER, H.; N. MÜLLER: Quantitative Untersuchungen nach experimenteller Blockade des Ductus thoracicus bei Ratten. Ergebnisse der Angiologie, 13, 233-251 (1976).

CREMER, H.; N. MÜLLER; H. BECHTELSHEIMER: Morphological studies on the rat liver and a biochemical analysis of the serum following experimental ligature of the thoracic duct. Lymphology 7, 69-80 (1974).

CREMER, H.; N. MÜLLER; B. LOUVEN: Morphologische, biochemische und elektrokardiographische Befunde an Rattenherzen nach experimenteller Blockade des Ductus thoracicus. Folia Angiologica, Vol. XXI, 9/10, 261-269 (1973).

CREMER, H.; N. MÜLLER; J. TANTOW: Pathomorphology of lymphostasis. Estratto da: Atti Del IX Congresso Dell'Unione Internazionale Di Angiologia, Vol. IV, 1974.

CREMER, H; P.-J. SCHATTENBERG; N. MÜLLER: Autoradiographische und elektronenmikroskopische Untersuchungen an der Rattenleber nach experimenteller Blockade des Ductus thoracicus in Höhe des linken Venenwinkels. Res. exp. Med. 168, 173-186 (1976).

DE SOUSA PEREIRA, A.; J.M.M. DE SOUSA PEREIRA; J. ROCHA COUTINHO: Collateral lymphatic circulation after thoracic duct and right lymphatic duct interruption. J. Cardiovasc. Surgery, Spec. No., 121-124 (1975).

DICKER, S.E.; D.G. SHIRLEY: Mechanism of compensatory renal hypertrophy. J. Physiol. 219, 507-523 (1971).

DIETRICH, H.J.; W. KRIZ: Interstitium und Lymphgefäße in der Säugerniere. Pyelonephritis, Bd. III, G. Thieme, Stuttgart, 1972.

DÖRMER, P.: Das erythrozytäre Zellsystem. In: W. Quaiser: Das Knochenmark, 150-163, Stuttgart, 1978.

DONIACH, I.; S.R. PELC: Autoradiographic technique. Brit. J. Radiol. 23, 184-192 (1950).

DUMONT, A.E.: Fibroplasia: A sequel to lymphocyste exsudation in the inflammatory process. Academic Press: New York, London, 535-558 (1965).

DUSPIVA, F.: Biochemie der Mitose. In: Handbuch der allgemeinen Pathologie, Bd. II/2, 480-554, Springer, Berlin/Heidelberg/New York, 1971.

ENGESET, A.: Lymphatico-venous communications in the albino rat. J. Anat. 93, 380-383 (1959).

EPIFANOVA, O.I.: Critical periods of the mitotic cycle and some experimental approaches to their investigation. Tsitologya 7, 5-23 (1965 a).

FEINENDEGEN, L.E.: Tritium-labeled molecules in biology and medicine. Academic Press: New York, London, 267-269 (1967).

FICHTELIUS, K.E.; H. DIDERHOM: Autoradiographic analysis of the inflammatory process. Acta path. microbio. scand. 52, 11-18 (1961).

FIRKET, H.; W.G. VERLY: Autoradiographic visualization of synthesis of desoxyribonucleic acid in tissue culture with tritium-labeled thymidine. Nature, 181, 274-275 (1958).

FÖLDI, M.: Erkrankungen des Lymphsystems. Witzstrock, Baden-Baden, Brüssel, 1971.

FÖLDI, M.: Physiologie und Pathophysiologie des Lymphgefäßsystems. In: Handbuch der allgemeinen Pathologie, Bd. III/6, 239-305. Springer, Berlin/Heidelberg/New York, 1972.

FÖLDI, M.; B. CSILLIK; T. VÁRKONYI; Ö.T. ZOLTÁN: Lymphostatic cerebral hemangiopathy - ultrastructural alterations in blood of the brain after blockade of cervical lymph drainage. Vasc. Surg. 2, 214-222 (1968).

GAUER, O.H.: Kreislauf des Blutes. In: Physiologie des Menschen. Hersg.: O.H. Gauer, K. Kramer, R. Jung, Bd. 3, 81-325. Urban & Schwarzenberg, München-Berlin-Wien, 1972.

GELFANT, S.: Initiation of mitosis in relation to the cell division cycle. Exp. Cell Res. 26, 395-403 (1962).

GELFANT, S.: A new theory on the mechanism of cell division. In: "Cell growth and cell division", Vol. II, 229-259. Harris, R.J.C., ed. - Academic Press, New York and London, 1963 a.

GELFANT, S.: Patterns of epidermal cell division. In: Exp. Cell Res. 32, 521-528 (1963 b).

GELFANT, S.: Patterns of cell division: The demonstration of discrete cell populations.
In: "Methods in cell physiology", Vol. II, 359-395.
Prescott, D.M., ed. - Academic Press, New York and London, 1966.

GERBER, G.: DNA-synthesis in the isolated perfused rat liver.
Euratom, Eur 308, 3 (1963).

GRAU, H.: Vergleichende Anatomie des Lymphgefäßsystems.
Handbuch der allgemeinen Pathologie, Bd. III/6, 3979, Springer, Berlin/Heidelberg/New York, 1972.

HARRIS, E.B.: Autoradiography.
Medica mundi, 2, 1-8 (1956).

HEINE, H.-D.: Die Zellproliferation der Nierentubuli nach einseitiger Nephrektomie und ihre Beeinflussung durch circadiane Rhythmen
- Autoradiographische Untersuchungen mit ^{3}H-Thymidin.
Med. Diss., Würzburg, 1971.

HEINE, H.-D.; E. STÖCKER: Regeneration of kidney parenchyma under normal und pathological conditions.
Beitr. Path., Bd. 145, 89-99 (1972).

HEINE, W.-D.: Die Zellproliferation der Niere unter normalen und pathologischen Bedingungen
- Autoradiographische Untersuchungen mit ^{3}H-Thymidin an der Ratte -
Med. Diss., Würzburg, 1968.

HEINE, W.-D.: Das kompensatorische Nierenwachstum und seine Regulation. Bericht über autoradiographische Untersuchungen mit einer neuen Hypothese der Wachstumsregulation.
Habilitationsschrift, Würzburg, 1973.

HEINE, W.-D.; E. STÖCKER: Zur Zellproliferation bei der kompensatorischen Hypertrophie nach 2/3 Nephrektomie.
Verh. Dtsch. Ges. Path. 55, 659-664 (1971).

HEINE, W.-D.; E. STÖCKER; H.-D. HEINE: Tageszeitliche Rhythmen der Zellproliferation in der kompensatorisch regenerierenden Niere nach unilateraler Nephrektomie. Virchows Arch. Abt. B, Zellpath. 9, 75-96 (1971).

HELPAP, H; H. CREMER: Autoradiographische Untersuchungen am Granulationsgewebe mit radioaktiv markiertem und unmarkiertem Thymidin. Virchows Arch. Abt. B, Zellpath. 10, 145-151 (1972).

HELPAP, H.; H. CREMER; V. GROULS: Reutilisation von markierten DNS-Bausteinen bei der Wundheilung. Naturwiss. 11, 574-575 (1971).

HEMPEL, K.: Struktur des tierischen Melanins und Strahlenempfindlichkeit melaninbildender Zellen. Biochemische und autoradiographische Untersuchungen am Harding-Passey-Melanom der Maus mit radioaktivem Dopa, Tyrosin und Thymidin. Habilitationsschrift, Würzburg, 1966.

HEMPEL, K.: Analyse des Zellzyklus der Melanocyten des Harding-Passey-Melanoms der Maus unter besonderer Berücksichtigung der "Growth-Fraction". Virchows Arch. Abt. B, Zellpath. 1, 15-30 (1968).

HENEY, N.M.; P.J. O'MORCHOE; C.C.C. O'MORCHOE: The renal lymphatic system during obstructed urine flow. J. Urol. 106, 455-462 (1971).

HERRMANN, W.; G. HARTMANN; R. BRUST: Das Auflösungsvermögen mikroautoradiographischer Aufnahmen in Abhängigkeit von der Energie der verwendeten Beta-Strahlung, Teil I. Atompraxis 7, 315-320 (1961).

HILSCHER, W.; W. MAURER: Autoradiographische Bestimmung der Dauer der DNS-Verdoppelung und ihres zeitlichen Verlaufs bei Spermatogonien der Ratte durch Doppelmarkierung mit ^{14}C- und ^{3}H-Thymidin. Naturwiss. 49, 352-354 (1962).

HINRICHS, H.R.; R.O. PETERSEN; R. BASERGA: Incorporation of thymidine into DNA of mouse organs. Arch. Path. 78, 245-253 (1964).

HOELZER, D.: Zellkinetische Techniken - Autoradiographie. In: W. Quaiser: Das Knochenmark, 46-53, Stuttgart, 1978.

HOLMES, M.J.; P.J. O'MORCHOE; C.C.C. O'MORCHOE: Morphology of the intrarenal lymphatic system. Capsular and hilar communications. Am. J. Anat. 149, 333-352 (1977).

HOWARD, A.; S.R. PELC: Nuclear incorporation of P-32 as demonstrated by autoradiographs. Exp. Cell. Res. 2, 178-187 (1951).

HOWARD, A; S.R. PELC: Synthesis of desoxyribonucleic acid in normal and irradiated cells and its relation to chromosome breakage. Heredity Suppl. 6, 261-273 (1953).

HÜBNER, K.: Kompensatorische Hypertrophie, Wachstum und Regeneration der Rattenniere. Ergebn. Path. Anat. 48, 1-80 (1967).

HÜBNER, K.; I. SELAK: Histoautoradiographische Untersuchungen über die Beteiligung des Niereninterstitiums am Nierenwachstum. Frankfurt. Z. Path. 77, 98-106 (1967).

HUGHES, P.E.: Studies on the intracellular distribution of protein-bound amino - azo dyes in rat liver. Austr. J. exp. Biol. med. Sci. 35, 173-177 (1957).

HUTH, F.: Beiträge zur Orthologie und Pathologie der Lymphgefäße der Nieren. Beitr. path. Anat. 136, 341-412 (1968).

HUTH, F.: Allgemeine Pathologie des Lymphgefäßsystems. In: Handbuch der allgemeinen Pathologie, Bd. III/6 457-544, Springer, Berlin/Heidelberg/New York, 1972.

HUTH, F.: Normale und pathologische Anatomie des Lymphgefäßsystems. Monatsschr. Kinderheilkd., 125, 508-510 (1977).

HUTH, F.; D. BERNHARDT: The anatomy of lymph vessels in relation to function. Lymphology 10, 54-61 (1977).

ISHIDA, O.; H. UCHIDA; Y. TAJI; S. SONE: The paralymphatic system. In: Progress in Lymphology II, 46-48. Hersg.: Viamonte, M.; P.R.Koehler; M. Witte; Ch. Witte. G. Thieme, Stuttgart, 1970.

JOB, T.T.: Lymphaticovenous communications in the common rat and their significance. Am. J. Anat. 24, 467-491 (1918).

KAISERLING, H.; TH. SOOSTMEYER: Die Bedeutung des Nierenlymphgefäßsystems für die Nierenfunktion. Wien. Med. Wschr. 15, 1113-1116 (1939).

KAMPMEIER, O.F.: Evolution and comparative morphology of the lymphatic system. C.C. Thomas, Springfield (III), 1969.

KEYL, J.; R.D. BELL; W.L. PARRY: Summary of renal lymphatic studies. J. Urol., 109, 325-329 (1973).

KISIELESKI, W.E.; R. BASERGA; H. LISKO: Tritiated thymidine and the study of tumors. Atompraxis, 7, 81 (1961).

KLINE, J.K.; A.S. MILLER; L.N. KATZ: Cardiac lymphflow impairment and myocardial fibrosis. Arch. Path. 76, 424-433 (1963).

KLINGE, O.: Vergleichende Untersuchungen zur tubulären Zellvermehrung nach Ischämie und Ektomie der Gegenniere. Beitr. path. Anat. 130, 352-369 (1964).

KREEL, L.: Lymphangiographic appearances in the rat. Lymphology, 4, 145-150 (1971).

KRIZ, W.: Der architektonische und funktionelle Aufbau der Rattenniere. Z. Zellforsch. 82, 495-535 (1967).

KRIZ, W.; H.J. DIETRICH: Das Lymphgefäßsystem der Niere bei einigen Säugetieren. Licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen. Z. Anat. Entwicklungsgesch. 131, 111-147 (1970).

LAMBERTON, L.F.; E.B. HARRISS: Resolution and sensitivity considerations in autoradiography. J. Photogr. Science 2, 135-144 (1954).

LANG, W.; D. MÜLLER; W. MAURER: Prozentualer Anteil von applziertem H-3-Thymidin an der zellulären DNS-Synthese bei verschiedenen Zellarten der Maus und Hela - Zellkulturen. Exp. Cell. Res. 49, 558-571 (1968).

LARSON, D.L.; T.P. BOND; A.E. RODIN; C.R. COERS; S.R. LEWIS: Clinical and experimental obstruction of the thoracic duct. Surgery 60, 35-42 (1966).

LEAK, L.V.: The fine structure and funktion of the lymphatic vascular system. Handbuch der allgemeinen Pathologie, Bd. III/6, 149-196, Springer, Berlin/Heidelberg/New York, 1972.

LEBLOND, C.P.; F.L. BÉLANGER: Detection of radioactive phosphorous by the autographic method in the newborn mouse. Anat. Rec. 94, 542 (1946).

LE BRIE, S.J.: Renal lymph and osmotic diuresis. Am. J. Physiol. 215 (1), 116-123 (1968).

LENNARTZ, K.J.: Grundlagen, Technik und Anwendungsbereich der Autoradiographie. MTA, 4, 153-163 (1978).

LENNARTZ, K.J.; W. MAURER: Autoradiographische Bestimmung der Dauer der DNS-Verdoppelung und der Generationszeit beim Ehrlich - Ascitestumor der Maus durch Doppelmarkierung mit C^{14} - und H^3 - Thymidin. Z. Zellforsch. 63, 478-495 (1964).

LENNARTZ, K.J.; W. MAURER; M. EDER: Auswertungs-Verfahren bei Doppelmarkierung mit C^{14} - und H^3 - Thymidin für exponentielles Wachstum. Histochemie 13, 84-90 (1968).

LIE, T.S.; G. SEIFERT; E. FASSKE; H. NAKANO; H. EBATA; G. BARTSCH: Experimentelle Lymphostase der Leber. Leber, Magen, Darm, 4, 313-316 (1974).

LIMBORGH, J. van: Mikroskopische Anatomie der Lymphgefäßwand. Comèl, M. und L. Laszt (ed.): Morphologie und Histochemie der Gefäßwand. Teil II, 309-324, S. Karcher, Basel, 1966.

MALÉK, P.: Importance of lymphatico-venous communications in the regeneration of lymphatics. Progress in Lymphology II, 574-577, Hersg.: Viamonte, M.; P.R. Koehler; M. Witte; Ch. Witte. G. Thieme, Stuttgart, 1970.

MALÉK, P.: Lymphaticovenous anastomoses. In: Handbuch der allgemeinen Pathologie, Bd. III/6, 197-215, Springer, Berlin/Heidelberg/New York, 1972.

MAURER, W.; E. PRIMBSCH: Größe der Beta-Selbstabsorption bei der H-3-Autoradiographie. Exp. Cell. Res. 33, 8-18 (1964).

MAURER, W.; B. SCHULTZE; A.C. SCHMEER; V. HAACK: Autoradiographic studies on the mode of growth in jejunal crypt cells of the mouse. J. Microsc. 96, 181-190 (1972).

MAYERSON, H.S.: The lymphatic system with particular reference to the kidney. Surg. Gynecol. Obstet. 116 (3), 259-272 (1963).

Mc FARLANE, D.: Experimental phosphate nephritis in the rat. J. Path. Bact. 52, 17-24 (1941).

Mc INTOSH, G.H.; B. MORRIS: The lymphatics of the kidney and the formation of renal lymph. J. Physiol.214, 365-376 (1971).

MENDELSOHN, M.L.: Autoradiographic analysis of cell proliferation in spontaneous breast cancer of C3H mouse. II. Growth and survival of cells labelled with tritiated thymidine. J. Nat. Cancer Inst. 25, 485-500 (1960).

MENDELSOHN, M.L.: Autoradiographic analysis of cell proliferation in spontaneous breast cancer of C3H mouse. III. Growth fraction. J. Nat. Cancer Inst. 28, 1015-1029 (1962).

MILLER, A.J.; R. PICK, N. KATZ: Ventricular endomyocardial changes after impairment of cardiac lymph-flow in dogs. Brit. Heart J. 25, 182-190 (1963).

MINDERJAHN, A.: Die zelluläre Reaktion der Rattenniere nach lokaler Gewebsvereisung.
- Lichtmikroskopisch-autoradiographische Untersuchungen mit ^{3}H-markiertem Thymidin.
Med. Diss., Bonn, 1974.

MÖLLENDORF, W. von: Der Exkretionsapparat.
In: Handbuch der mikroskopischen Anatomie des Menschen, Bd. VII/1, Springer, Berlin 1930.

NAGLE, R.B.; M.E. JOHNSON; H.R. JERVIS: Proliferation of renal interstitial cells following injury induced by ureteral obstruction.
Lab. Invest., 35 (1), 18-22 (1976).

NOLTENIUS, H.; H. ACHENBACH; W. OEHLERT; H. SCHELLHAS: Experimentelle Nierenvergrößerung nach unilateraler Nephrektomie bei Ratten.
- Untersuchungen mit ^{3}H-Thymidin.
Beitr. Path. Anat. 132, 220-240 (1965).

NORDQUIST, R.E.; R.D. BELL; R.J. SINCLAIR; M.J. KEYL: The distribution and ultrastructural morphology of lymphatic vessels in the canine renal cortex.
Lymphology 6, 13-19 (1973).

OHKUMA, M.: Electron microscopic observation of the renal lymphatic capillary after injection of ink solution.
Lymphology 6, 175-181 (1973).

OTTAVIANI, G.: The histobiology of the lymphatics.
Folia Angiologica, 5, 164-168 (1959).

OTTAVIANI, G.; G. AZZALI: Ultrastructure des capillaires lymphatiques.
Comèl, M. und S. Laszt (ed.),: Morphologie und Histochemie der Gefäßwand, Teil II, 325-360, S. Karcher, Basel, 1966.

OTTE, B.: Autoradiographische und morphometrische Untersuchungen über den Einfluß einer Ductus thoracicus Blockade auf die Dünndarmmucosa bei Ratten.
Med. Diss., Bonn (in Vorbereitung).

PAINTER, R.B.; R.M. DREW: Studies on desoxyribonucleic acid metabolism in human cancer cell cultures (HeLa). Lab. Invest. 8, 278-285 (1959).

PELC, S.R.: Autoradiographe technique. Nature 160, 749-750 (1947).

PELC, S.R.: The stripping film technique of autoradiography. Int. J. appl. Radiat. 1, 172-177 (1956).

PELC, S.R.: Quantitative aspects of autoradiography. Exp. Cell. Res. 4, 231-237 (1957).

PELC, S.R.: Turnover of DNA und function. Nature 219, 162 (1968) a.

PELC, S.R.: Biological implications of DNA-turnover in higher organisms. Acta histochem., Suppl. VIII, 41 (1968) b.

PELC, S.R.; T.C. APPLETON: Distribution of tritiated thymidine in various tissues. Nature 205, 1287-1289 (1965).

PILGRIM, CH.; W. ERB; W. MAURER: Diurnal fluctuations in the numbers of DNA synthesizing nuclei in various mouse tissues. Nature 199, 863 (1963).

PILGRIM, CH.; K.-J. LENNARTZ; K. WEGENER; S. HOLLWEG; W. MAURER: Autoradiographische Untersuchungen über tageszeitliche Schwankungen des H-3-Index und des Mitose-Index bei Zellarten der ausgewachsenen Maus, des Ratten-Fetus sowie bei Ascites-Tumorzellen. Z. Zellforsch. 68, 138-154 (1965).

POST, J.; J. HOFFMANN: Changes in the replication times and patterns of the liver cell during the life of the rat. Exp. Cell. Res. 36, 11-123 (1964).

PRESSMAN, J.J.; R.F. DUNN; M.V. BURTZ: Direct communications between lymph nodes and veins. In: Progress in Lymphology II, Hersg.: Viamonte, M.; P.R.Koehler;M.Witte Ch. Witte. G. Thieme, Stuttgart, 1972.

QUASTLER, H.; F.G. SHERMAN: Cell population kinetics in the intestinal epithelium of the mouse. Exp. Cell. Res. 17, 420-438 (1959).

REICHARD, P.; B. ESTBORN: Utilization of desoxyribosides in the synthesis of polynucleotides. J. Biol. Chem. 188, 839-846 (1951).

REIMER, C.: Elektronenmikroskopische Untersuchungs- und Präparationsmethoden. Springer, Berlin/Heidelberg/New York (1967).

RIEKE, W.O.: The in vivo reutilization of lymphocytic and sarcoma DNA by cells growing in the peritoneal cavity. J. Cell Biol. 13, 205-216 (1962).

ROBERTSON, J.S.; V.P. BOND; E.P. CRONKITE: Resolution and image spread in autoradiographs of tritium-labeled cells. Inter. J. appl. Radiat. 7, 33-37 (1959).

ROBINSON, S.H.; E.G. BRECHER: Delayed incorporation of tritiated thymidine into DNA. Science 142, 392-393 (1963).

RODBARD, S.: The capsular barrier between the interstitial fluid and the source of the lymph. Currents in Modern Biology 3, 27-34 (1969).

ROJO-ORTEGA, J.M.; E. YEGHIAYAN; J. GENEST: Lymphatic capillaries in the renal cortex of the rat. Lab. Invest., 29 (3), 336-341 (1973).

ROLLHÄUSER, H.; W. KRIZ; W. HEINKE: Das Gefäßsystem der Rattenniere. Z. Zellforsch. 64, 381-403 (1964).

ROOS, B.: Makrophagen: Herkunft, Entwicklung und Funktion. In: Handbuch der allgemeinen Pathologie, Bd. VII/3, 213-270. Springer, Berlin/Heidelberg/New York, 1970.

RUBINI, J.R.; E.P. CRONKITE; V.P. BOND; T.M. FLIEDNER: The metabolism and fate of tritiated thymidine in man. J. Clin. Invest. 39, 909-918 (1960).

RUSZNYAK, J.M.; M. FÖLDI; G. SZABO: Lymphologie. G. Fischer, Stuttgart, 1969.

SABIN, F.: The origin and development of the lymphatic system. Bull. Johns Hopkins Hosp. 17, 347 (1916).

SAILER, F.; G. STAUCH: Das paralymphatische System. Med. Klin. 67, 1522-1524 (1972).

SALDEEN, T.; E. LINDNER: A method for long term collection of lymph from thoracic duct in rats. Acta Path. Microbiol. Scand. 49, 433-437 (1960).

SCHULTZE, B.: Die Orthologie und Pathologie des Nukleinsäure- und Eiweißstoffwechsels der Zelle im Autoradiogramm. Handbuch der allgemeinen Pathologie, Bd. II/5, 466-670, Springer, Berlin/Heidelberg/New York, 1968.

SCHULTZE, B.; V. HAACK; A.C. SCHMEER; W. MAURER: Autoradiographic investigation on the cell kinetics of crypt epithelia in the jejunum of the mouse: Confirmation of steady state growth with constant frequency distribution of cells throughout the cycle. Cell and Tissue Kinetics 5, 131-146 (1972).

STEVENS, G.W.W.: Resolution testing in autoradiography. Nature 161, 432-433 (1948).

STEVENS, G.W.W.: Radioactive microphotographs for resolution testing in autoradiography. Brit. J. Radiol. 23, 723-730 (1950).

STÖCKER, E.: Der Proliferationsmodus in Niere und Leber. Verh. Dtsch. Ges. Path. 50, 53-74 (1966).

STÖCKER, E.; B. SCHULTZE; W.-D. HEINE; H. LIEBSCHER: Wachstum und Regeneration in parenchymatösen Organen der Ratte. (Autoradiographische Untersuchungen mit ^{3}H-Thymidin). Z. Zellforsch. 125, 306-331 (1972).

STOLARCZYK, J.; F.A. CARONE: Effects of renal lymphatic occlusion and venous constriction on renal function. Am. J. Pathol. 78, 285-296 (1975).

SWANN, H.G.; R.J. NORMAN: The periarterial spaces of the kidney. Tex. Rep. Biol. Med. 28, 317-335 (1970).

TANTOW, J.: Experimentelle lymphostatische Hämangiopathie in der Rattenlunge. Histologische und morphometrische Befunde. Med. Diss., Bonn, 1977.

TAYLOR, A.E.; W.H. GIBSON; H.J. GRAUGER; A.C. GUYTON: The interaction between intracapillary and tissue forces in the overall regulation of interstitial fluid volume. Lymphology 6, 192-208 (1973).

TAYLOR, J.H.; P.S. WOODS; W.L. HUGHES: The organization and duplication of chromosomes as revealed by autoradiographic studies using tritium-labeled thymidine. Proc. nat. Acad. Sci. (Washington) 43, 122-128 (1957).

TEMMER, B.; N. SIPUS: Lymphography and perivascular lymphatic spaces in infants. Progress in Lymphology II, 49-50, Hersg.: Viamonte, M.; P.R. Koehler; M. Witte; Ch. Witte. G. Thieme, Stuttgart, 1970.

THREEFOOT, S.A.: Lymphaticovenous communications. In: Lymphology and the lymphatic system, 17-52. Hersg.: Mayerson, H.S.; Ch.C. Thomas, Springfield (III.), 1968.

THULESIUS, O.: Capillary filtration under normal and pathological conditions. Angiologica 10, 198-213 (1973).

THULESIUS, O.: Interstitial fluid pressure, lymphatics and edema. Folia Angiologica, 22, 5-8 (1974).

TILNEY, N.L.: Patterns of lymphatic drainage in the adult laboratory rat. J. Anat. 109 (3), 369-383 (1971).

TORMENE, A.; R. MILLINI; O. ZANGRANDO: The role of the lymphatic system of the kidney in the physiopathology of ureteral obstruction. Urol. int. 16, 341-352 (1963).

VERLY, W.G.; G. HUNEBELLE: Preparation de thymidine marquée avec du tritium. Bull. Soc. chim. Belg. 66, 640-649 (1957).

WALLACE, S.: The paralymphatic system. Progress in Lymphology II, 87-91, Hersg.: Viamonte, M.; P.R. Koehler; M. Witte; Ch. Witte. G. Thieme, Stuttgart, 1970.

WEGENER, K.; S. HOLLWEG: Autoradiograpische Bestimmung der Generationszeit und der Dauer von Teilphasen bei fetalen Zellen der Ratte. Anat. Anz. 115, 134-140 (1964).

WEGENER, K; S. HOLLWEG; W. MAURER: Autoradiographische Bestimmung der DNS-Verdoppelungszeit und anderen Teilphasen des Zellzyklus bei fetalen Zellarten der Ratte. Z. Zellforsch. 63, 309-326 (1964).

WENZEL, J.: Normale Anatomie des Lymphgefäßsystems. Handbuch der allgemeinen Pathologie, Bd. II/6, 89-148. Springer, Berlin/Heidelberg/New York, 1972.

Herrn Prof. Dr. med. H. Cremer danke ich für die Überlassung des Themas und den Rat und die Hilfe bei der Anfertigung der Arbeit.

Frau B. Castenholz möchte ich für die Unterstützung in der technischen Ausführung der Arbeit danken.

Lebenslauf

Am 3.8.1949 wurde ich als Tochter des Ehepaares August und Mathilde Keller in Schermbeck, Kreis Wesel, geboren.

Von 1956 bis 1958 besuchte ich die Grundschule in Dorsten-Holsterhausen und von 1958 bis 1960 die Grundschule in Altschermbeck.

Ab 1960 bis 1968 absolvierte ich das neusprachliche Mädchengymnasium in Dorsten. Dort legte ich am 14.5.1968 die Reifeprüfung ab.

Vom Sommersemester 1969 an studierte ich Ökotrophologie an der landwirtschaftlichen Fakultät der Universität Bonn. Am 12.4.1973 schloß ich das Studium mit der Diplomprüfung ab.

Seit dem Wintersemester 1973/74 studiere ich Medizin an der Universität Bonn. Dort legte ich am 25.8.1975 die ärztliche Vorprüfung und am 26.6.1980 die ärztliche Prüfung ab.